Vergleichende Untersuchungen über die Spaltbarkeit von Peptonen und Polypeptiden durch die Fermente der Pankreasdrüse

---

Inaugural-Dissertation

der mathematisch-naturwissenschaftlichen Abteilung
der philosophischen Fakultät der Universität Basel

zur Erlangung der

Doktorwürde

vorgelegt von

Rebecka Schönfeld-Reiner
aus Jerusalem

Berlin 1930
Druck von L. Schumacher, N 4

Genehmigt von der mathematisch-naturwissenschaftlichen Abteilung der philosophischen Fakultät auf Antrag der Herren Professoren Dr. A. Bernoulli und Dr. K. Spiro.

Basel, den 3. Juni 1930.

Prof. Dr. H. Zörnig
Dekan.

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

I. Historischer Teil.

Bereits in der älteren physiologisch-chemischen Literatur waren zwei proteolytische fermentative Wirkungen in den Sekreten der Darmdrüsen bekannt. Das eine Ferment der Eiweißverdauung, das Trypsin, wurde schon 1836 (Purkinje, Pappenheim) entdeckt. Das andere wurde 1901 von Cohnheim bei der Peptonspaltung der Darmschleimhaut gefunden. Er nannte es Erepsin. Spätere Arbeiten von Waldschmidt-Leitz und Mitarbeitern wiesen nach, daß das Darmerepsin mit dem Pankreaserepsin identisch ist. Nach der Bestätigung der Existenz dieser zwei Fermente wurden Versuche gemacht, sie zu trennen. Die angebliche Trennung, die G. Schäffer und E. Terroine 1910 durchführten, wurde von Waldschmidt-Leitz als unzutreffend erkannt. Er selbst befaßte sich mit dem gleichen Problem. Seine unten angeführten Arbeiten behandeln die Frage, wie weit die getrennten Fermente einheitlich sind, und ob man ihren Wirkungsbereich an ihren Substraten scharf definieren kann. Die Trennung der beiden Komponenten wurde nach der Adsorptionsmethode von Willstätter mit Aluminiumhydroxyd durchgeführt (1, 2). In allen hier angeführten Versuchen wurde die aktivierte Trypsin-Kinase verwendet.

Da die Kenntnisse über die spezifische Wirkung der Pankreasfermente sehr unvollständig waren, erstrebte Waldschmidt-Leitz die Grenzen dieser Wirkung zu finden.

Er untersuchte unter anderen die folgenden Substrate:

Substrat	Darm-Erepsin	Pankreas-Erepsin	Pankreas-Trypsin-Kinase
Alanyl-glycin	+	+	—
Glycyl-tyrosin	+	+	—
Glycyl-glycin	+	+	—
Leucyl-glycin	+	+	—
Leucyl-alanin	+	+	—
Pepton Merk	—	—	+
Clupein	—	—	+
Casein	—	—	+
Fibrin	—	—	+
Gelatine	—	—	+
Gliadin usw.	—	—	+

Alle untersuchten Di- und Tripeptide wurden von Erepsin hydrolysiert, keines dagegen von Trypsin. Weder das Pepton der peptischen Verdauung (die gegenteiligen Befunde von Cohnheim erklärt man durch eine Beimengung von Trypsin) noch das Protamin oder Histon wurden durch Erepsin gespalten. Dagegen griff Trypsin alle diese Substrate an. Auch wurde die Identität von Pankreas- und Darmerepsin festgestellt. Diese neuen Anschauungen über die Spezifität der Pankreasenzyme führten zur Unterscheidung mehrerer Typen proteolytischer Enzyme:

1. Peptidase (Erepsin). Spezifische Substrate: Di- und Tripeptide.
2. Nicht aktiviertes Trypsin, noch nicht durch ein streng spezifisches Substrat gekennzeichnet.
3. Aktiviertes Trypsin.
4. Pepsin.

Es war damit die spezifische Einstellung des Erepsins auf die Sprengung der einfachen Peptidbindungen erwiesen. Da aber die Wirkung des Trypsins auch in der Aufspaltung von CO-NH-Bindungen bestand, erhob sich die Frage nach dem Unterschied in der tryptischen und ereptischen Spaltung. Mit dieser Frage haben sich Euler und Josephson befaßt (Näheres wird weiter unten referiert). Sie fanden, daß die Bindung des Erepsins des Schweinsdarmes wenigstens teilweise durch die freie Aminogruppe des Substrates vermittelt wird. Die Frage nach der Angriffstelle des Trypsins wurde erst eindeutiger, als auch für das Trypsin definierte Substrate bekannt wurden (3, 4). Erst durch die Feststellung spezifischer Substrate und ihres Wirkungsbereiches konnte man der Frage nach der Art der Bindung näher treten. Waldschmidt-Leitz und Mitarbeiter fanden, daß für die Spezifität des Trypsins und Erepsins neben der Länge der Peptidkette die Natur der Aminosäurebausteine selbst wichtig ist. So verändert eine Verlängerung der Dipeptide,

wie z. B. Leucyl-glycins durch Einführung von Glycylresten bis zum Oktapeptid nicht die Angriffsfähigkeit des Erepsins. Aber mit der Einführung von Tyrosin wird das Pentapeptid Leucyl-triglycyl-tyrosin vom Trypsin und nicht mehr vom Erepsin gespalten. Die Tatsache, daß niedere Peptide auch durch Trypsin hydrolysiert werden, ändert die bisherige Unterscheidungsmöglichkeit zwischen Trypsin und Erepsin.

Auch die Adsorbierbarkeit der Fermente (5) durch Adsorbentien wird neben ihrer Bedeutung als Trennungsmethode der Fermente zur Differenzierung der letzteren auf Grund ihrer physiko-chemischen Eigenschaften herangezogen.

Die weitere Prüfung einer Reihe von Substraten (6) ergab, daß Dipeptide eine gewisse Sonderstellung, unabhängig von der Natur der an ihrem Aufbau beteiligten Aminosäuren, zeigen. Sie werden nur von Erepsin gespalten. Für die Spaltbarkeit höherer Peptide durch Trypsin, das sich nach Waldschmidt-Leitz und Mitarbeitern gegenüber allen Dipeptiden unwirksam erwies, ist eine Verkettung besonderer Aminosäuren als Bausteine erforderlich. Es gibt jedoch eine Reihe von einfachen Tripeptiden, die von Trypsin und Erepsin gespalten werden. Erst das Pentapeptid d, l-Leucyl-triglycyl-tyrosin kann als spezifisches Trypsinsubstrat gelten. Die Angreifbarkeit der tyrosinhaltigen Tri- und Tetrapeptide durch beide erklären sie durch die verschiedene Angriffsweise (im Sinne von Euler und Josephson). Der Abbau dieser Peptide erfolgt nämlich durch Erepsin von der freien Aminogruppe aus, die durch Trypsin dagegen am Carboxylende. In vielen Fällen ließ sich eine Änderung der Spezifität nach Einführung neuer Gruppen in ein gegebenes Substrat feststellen, z. B. wird Glycyl-tyrosin nur von Erepsin, β-Naphtalin-sulfonyl-glycyl-tyrosin aber nur von Trypsin zerlegt. Die Prüfung einer großen Anzahl azylierter Peptide machte die Annahme von Euler und Josephson wahrscheinlich, daß für die Erepsinwirkung die Gegenwart der freien Aminogruppe im Substrat notwendig ist, was auch weitere Arbeiten (7) von Waldschmidt-Leitz bestätigen. Es muß ferner beachtet werden, daß der Einfluß der eingeführten Säurereste, der die tryptische Spaltbarkeit ermöglicht, mit der Verlängerung der Peptidkette nachläßt. Schon das benzoylierte Pentaglycin wird durch Trypsin nicht mehr gespalten. Eine Amidierung der Carboxylgruppe oder eine Veresterung führen keine Änderung in der Erepsinwirkung herbei. Aus den Versuchen von Euler und Josephson über die Hemmung von Erepsin durch verschiedene Aldehydreagenzien (13, 14) folgerten sie, daß die gesuchte Affinitätsgruppe des Erepsins Aldehydeigenschaften besitzt. Für das Verständnis der Peptidspaltung durch Erepsin haben Waldschmidt-Leitz und Mitarbeiter (8) in den Reaktionen einfacher Zucker mit Amino-

säuren Anhaltspunkte gefunden. Interessant ist der Vergleich zwischen der Abhängigkeit der Peptidspaltung von der (H^+)-Konzentration und der Abhängigkeit der Kondensation von Peptiden mit Glykose. Beide Kurven, d. h. die p_H-Kurve der Kondensationsgeschwindigkeit von Glycylglycin mit Glykose und die p_H-Kurve der Spaltung durch Darmerepsin, stimmen in ihrem Verlauf vollständig überein.

Für die Spaltbarkeit einer Peptidbindung durch Trypsin ist ein gewisser elektronegativer Charakter des Substrates und die Gegenwart einer freien Carboxylgruppe im Substrat erforderlich (9). Waldschmidt-Leitz und Mitarbeiter führen die spezifische Wirkung des Trypsins auf die Verstärkung des elektronegativen Charakters des Substrates zurück. Aus dem gleichen Grunde werden Halogenazylverbindungen wohl von Trypsin, nicht aber von Erepsin gespalten.

Die bisherige Annahme, daß Dipeptide lediglich von Erepsin, nicht aber von Trypsin gespalten werden, bedurfte somit nach allen diesen Befunden einer Modifikation, zumal sich Tatsachen, wie die folgenden herausgestellt haben: Glutaminyl-tyrosin wird von Erepsin und Trypsin gespalten, ebenso Phenylalanyl-arginin.

Im Gegensatz zur früher geltenden Meinung (10) stellte sich das durch Adsorption an Tonerde (Cv-Sorte) bereitete Darmerepsin als uneinheitlich heraus. Es besteht aus einem Gemisch von dipeptidspaltendem und polypeptidspaltendem Ferment, stimmt also mit dem Peptidasensystem der Hefe überein (11).

Die Dipeptidase und die Polypeptidase des Darms unterscheiden sich in ihrem Verhalten gegenüber Tonerde nur wenig von einander. Ihre Trennung gelingt dagegen mit Eisenhydroxyd, von dem bei saurer Reaktion die Dipeptidase stark, die Polypeptidase nur wenig adsorbiert wird. Die Dipeptidase kann durch Elution aus dem Adsorbat gewonnen werden, enthält aber Beimengungen von Polypeptidase. Die Reaktionsoptima liegen für die Dipeptidase bei $p_H = 8{,}00$, für die Polypeptidase $p_H = 6{,}7—7{,}00$. Die Polypeptidase ist gegenüber saurer Reaktion beständiger als die Dipeptidase.

Kurz zusammenfassend sagen also die Arbeiten von Waldschmidt-Leitz (12) und Mitarbeitern folgendes aus: In den Sekreten und Auszügen der Pankreasdrüse und in denen der Darmschleimhaut befindet sich ein Gemisch von tryptischen und ereptischen Fermenten. Sie unterscheiden sich in ihrer Angriffsweise gegenüber den Substraten.

Die Anlagerung des Fermentes erfolgt beim Erepsin an die basische freie Aminogruppe des Substrates, beim Trypsin an der elektronegativen Carboxylgruppe.

Weder das Pankreaserepsin noch das Pankreastrypsin sind einheitlich.

Das Erepsin besteht nach den bisherigen Befunden aus einem Gemisch zweier Fermente: aus einer Polypeptidase und einer Dipeptidase.

Das Trypsin enthält eine proteinspaltende und eine polypeptidspaltende Komponente (Carboxy-Polypeptidase).

Damit sind folgende Fermente der Pankreasdrüse bekannt:

1. Proteinase.
2. Carboxy-Polypeptidase.
3. Aminopolypeptidase.
4. Dipeptidase.

Sie waren durch die Adsorptionsmethode von Willstätter und Mitarbeiter von einander trennbar. Die Wirkung der Proteinase ist auf die Spaltung der Eiweißstoffe und Protamine beschränkt; die Wirkung der Carboxy-Polypeptidase auf die Zerlegung von Polypeptiden bestimmter Zusammensetzung, wobei für die Spaltbarkeit der Ionisationsgrad der freien Carboxylgruppe in den Substraten von ausschlaggebender Bedeutung ist. Durch Einführung von Säureresten in die Aminogruppen wird der saure Charakter und cet. par. die Spaltbarkeit erhöht.

Bei der vorherigen Wiedergabe der Arbeiten von Waldschmidt-Leitz und Mitarbeitern wurde öfters der Anschauungen von Euler und Josephson Erwähnung getan. Diese befaßten sich (13, 14) mit dem Problem der Dipeptidasewirkung, insbesondere mit der Frage: welche Gruppen des Substrates vermitteln die Bindung des letzteren an die Peptidase. Sie suchten das Problem dadurch zu lösen, daß sie die hemmende Wirkung verschiedener Stoffe bekannter Struktur auf die Spaltbarkeit der Substrate verfolgten. Aus der hemmenden Wirkung des Glykokolls, Alanins usw. ergab sich die bereits oben erwähnte Vermutung, daß die Bindung des Substrates an Erepsin (aus Schweinsdarm), wenigstens zum Teil, durch eine freie Aminogruppe des Substrates vermittelt wird. Ob noch andere Gruppen des Substrates von Bedeutung sind, konnte nicht ermittelt werden. Jedenfalls sprechen die Ergebnisse über die Spaltung der Curtiusschen Biuretbase dafür, daß eine freie Carboxylgruppe im Substrat für diese Wirkung nicht unbedingt nötig ist.

Die hemmende Wirkung des Glykokolls hängt stark mit der Azidität bzw. Alkalität seiner Lösung zusammen. Während das isoelektrische Glykokoll keine Wirkung auf das Erepsin auszuüben schien, hemmte es bei $p_H = 7{,}9—8{,}0$, d. h. beim optimalen p_H der Spaltung.

Andere untersuchte Stoffe, wie Glycinanhydrid, hemmen weniger, Harnstoff gar nicht. Ebenso wenig hemmen Azetursäure und Hippursäure.

Das untersuchte Erepsinpräparat spaltete Witte-Pepton nur wenig. Dagegen hemmt seine Gegenwart die Glycyl-glycinspaltung. Offenbar enthält das Witte-Pepton Bestandteile, die die Dipeptidase binden. Als weitere Frage ergab sich, welche Atomgruppe im Ferment die Aminogruppe im Substrat bindet. Die hemmende Wirkung der Aldehydreagenzien: des Phenylhydrazins, Kaliumcyanids, Bisulfits usw., verstärken die Annahme, daß die gesuchte Gruppe Aldehydeigenschaften besitzt. Durch die Arbeiten Abderhaldens angeregt, nehmen Euler und seine Mitarbeiter an, daß mit der Bindung des Substrates gleichzeitig eine Enolisierung im Dipeptid eintritt, welches die Zerfallsgeschwindigkeit fördert.

Mit denselben Problemen wie Waldschmidt-Leitz, Euler und Josephson, aber an Hand eines viel größeren Versuchsmaterials, befassen sich die Arbeiten von Abderhalden und Mitarbeitern. Letzterer betont (15): „Es unterliegt keinem Zweifel, daß eine klare Vorstellung über die besondere Einstellung von Erepsin und Trypsin[1]) nur an Hand eines sehr großen Versuchsmaterials erreichbar ist". Die Tatsache, daß es Polypeptide gibt, die von Erepsin und Trypsin abgebaut werden, erschwert die Erklärung der Frage der spezifischen Einstellung von Fermenten auf bestimmte Substrate. Anderseits ergibt sich die Möglichkeit die Bindungsstellen (im Sinne von Euler und Josephson) zu prüfen. Es ist auch gelungen (16) derartige Versuche durchzuführen. Als Substrat dienten Polypeptide, die aus optisch-aktiven, in der Natur vorkommenden Aminosäuren bestehen. Die Änderung der Drehung während des Abbaus ließ erkennen, an welcher Stelle der Abbau beginnt. Beispielsweise spaltete Trypsin am l-Leucyl-glycyl-d-alanin das d-Alanin ab, dagegen Erepsin das l-Leucin. Dies betrachten die Autoren als Beweis, daß Erepsin zu jenem Baustein des Polypeptides in Beziehung tritt, der die freie Aminogruppe trägt, Trypsin dagegen zu jenem, der die freie Carboxylgruppe besitzt.

Durch den Befund von Waldschmidt-Leitz (4) angeregt, wonach ein Pentapeptid von Trypsin gespalten wird, wurden auch einige andere Polypeptide nach ihrem Verhalten gegenüber Erepsin bzw. Trypsin-Kinase geprüft (17). Als Substrate kamen l-Leucyl-glycyl-d-alanin, d-Alanyl-l-leucyl-glycyl-d-alanin und Glycyl-d-alanyl-l-leucyl-glycyl-d-alanin in Verwendung. Das Tripeptid wurde von Erepsin unter Abspaltung von l-Leucin stark angegriffen, das Tetra- und Pentapeptid viel weniger. Trypsin-Kinase zeigte beim Tripeptid gar keine, beim Tetrapeptid eine zweifelhafte, beim Pentapeptid eine starke Hydrolyse. Außerdem wurden auf ihre Spaltbarkeit l-Leucyl-d-valin, d-Alanyl-l-leucyl-d-valin, Glycyl-d-alanyl-

1) Unter „Trypsin" wird hier immer Trypsin-Kinase verstanden.

l-leucyl-d-valin und l-Leucyl-glycyl-d-alanyl-l-leucyl-d-valin untersucht. Das Dipeptid wurde von Erepsin gespalten, von Trypsin-Kinase gar nicht; das Tripeptid trat in zwei verschiedenen Modifikationen auf. Die eine Modifikation wurde nur von Erepsin gespalten, die andere war Erepsin gegenüber beständig und wurde von Trypsin-Kinase angegriffen. Das Tetra- und Pentapeptid wurden von Erepsin und Trypsin-Kinase angegriffen, und zwar letzteres besonders stark.

Als Beispiele für Polypeptide, die eine Monoaminodicarbonsäure enthalten (19), dienten: d,l-Leucyl-d-glutaminsäure, l-Leucyl-d-glutaminsäure, welche weder von Erepsin noch Trypsin-Kinase gespalten wurden; Glycyl-d-glutaminsäure, welche nur von Erepsin, l-Leucyl-glycyl-d-glutaminsäure, welche von Erepsin stark, von Trypsin-Kinase jedoch wenig gespalten wurde.

Der Befund von Waldschmidt-Leitz (4) und Mitarbeitern, wonach es Polypeptide gibt, die von Trypsin-Kinase und Erepsin angegriffen werden, wurde an weiterem, größerem Material von Polypeptiden (20) nachgeprüft, an deren Aufbau l-Cystin beteiligt ist: Di-(d-alanyl)-l-cystin, Di-(l-leucyl)-l-cystin, Di-(d-valyl-d-alanyl)-l-cystin, Di-(l-leucyl-glycyl)-l-cystin, Di-(l-leucyl-d-alanyl)-l-cystin, Di-(d-alanyl-d-valyl-d-alanyl)-l-cystin, Di-(l-leucyl-d-alanyl-d-valyl-d-alanyl)-l-cystin. Die beiden Tripeptide wurden nur von Erepsin gespalten. Die drei Pentapeptide gleichfalls von Erepsin. Trypsin-Kinase zeigte hier ebenfalls eine deutliche Einwirkung. Beim Heptapeptid überwog der Einfluß des Trypsins gegenüber dem von Erepsin. Das Nonapeptid wurde nur von Trypsin gespalten. Nach den bisherigen Beobachtungen widerstehen dem Angriff von Fermenten (21) solche Polypeptide, an deren Aufbau eine Aminosäure beteiligt ist, deren Konfiguration in der Natur nicht vorkommt. Nach Befunden von E. Abderhalden und Schapiro greift Trypsin-Kinase auch solche Polypeptide an, die d-Leucin als Baustein enthalten; maßgebend scheint die Stellung dieses Bausteines zu sein. Auch gewisse Peptide, die eine β-Aminosäure als Baustein enthalten, wie Glycyl-β-alanin, d,l-Leucyl-β-alanin wurden von den beiden Fermenten nicht angegriffen. Dagegen wurden Glycyl-d,l-leucyl-β-alanin, β-Alanyl-glycyl-d,l-leucin durch Trypsin-Kinase gespalten (22), und zwar das erstere besser als das zweite. Erepsin war unwirksam gegenüber den erwähnten Verbindungen. Auch β-Alanyl-d,l-leucyl-glycyl-d,l-leucin wird von Trypsin angegriffen. Wie ersichtlich, spielt die Stelle der β-Aminosäure eine Rolle; dieses Polypeptid wird durch Trypsin-Kinase gespalten, weil die β-Aminosäure nicht die freie Carboxylgruppe trägt.

Weiter wurde ein Polypeptid, welches eine Diaminosäure als Baustein besitzt (23): d,l-α,ε-Dileucyl-d,l-lysin untersucht; es wurde von Erepsin und Trypsin-Kinase gespalten.

Auch l-Leucin enthaltende Polypeptide wurden geprüft (24). Es zeigte sich, daß l-Leucyl-glycyl-l-leucin, Glycyl-l-leucyl-glycyl-l-leucin, d,l-leucyl-glycyl-glycyl-l-leucin, l-Leucyl-glycyl-l-leucyl-glycyl-l-leucin sowohl von Erepsin, als auch von Trypsin-Kinase angegriffen werden; Glycyl-d,l-leucyl-glycin, d,l-Leucyl-d,l-leucyl-glycyl-glycin, l-Leucyl-pentaglycyl-glycin, (l-Leucyl-triglycyl)$_2$-l-leucyl-pentaglycyl-glycin und (l-Leucyl-triglycyl)$_3$-l-leucyl-pentaglycyl-glycin werden ausschließlich durch Erepsin gespalten. Trypsin-Kinase bevorzugt jene Verbindungen, in denen Leucin die Carboxylgruppe trägt (dies gilt aber nicht allgemein). Es wurden auch Polypeptide mit endständigem Leucin gefunden, die Trypsin-Kinase nicht zu spalten vermochte. Diese Beobachtungen, wonach Polypeptide, in denen Leucin die freie Aminogruppe trägt, durch Trypsin, hingegen isomere Verbindungen, bei denen Glykokoll endständig ist, wohl durch Erepsin, jedoch nicht durch Trypsin-Kinase gespalten werden, wurden weiter nachgeprüft. Dazu untersuchte man verschiedene Phenylalaninderivate. Erepsin spaltete sämtliche Phenylalanin enthaltende Polypeptide, Trypsin-Kinase spaltet manche Phenylalaninderivate, jedoch keines der Polypeptide mit endständigem Glycin. Erepsin und Trypsin-Kinase wurden auf ihre Spaltbarkeit verschiedener Polypeptide (26), die Tyrosin als Baustein enthalten, geprüft. Solche Dipeptide wurden von Erepsin gespalten. Trypsin-Kinase griff erst Verbindungen an, die mindestens aus drei Bausteinen bestehen.

Die Annahme von Waldschmidt-Leitz und Mitarbeitern, wonach für die Wirkung der Trypsin-Kinase der elektronegative Charakter des Polypeptidsubstrates von maßgebender Bedeutung ist, konnten Abderhalden und Mitarbeiter (27) nicht bestätigen. Die zu diesem Zwecke untersuchten Verbindungen von d-α-Bromisocapronyl oder d,l-α-Bromisocapronyl-l-histidin, l-Leucyl- bzw. d,l-Leucyl-l-histidin ergaben folgende Resultate: Erepsin spaltete das Dipeptid, dagegen nicht den Halogenkörper; Trypsin-Kinase spaltete beide. Auch andere zahlreiche Versuche von Abderhalden und Mitarbeitern machen die Annahme von Euler und Josephson wahrscheinlich, wonach das Erepsin dann unwirksam ist, wenn die freie Aminogruppe des Polypeptids besetzt ist. Offen bleibt die Frage, weshalb ein Dipeptid, wie z. B. Tyrosyl-tyrosin, von Trypsin-Kinase gespalten wird und das Polypeptid aus 19 Bausteinen (l-Leucyl-triglycyl)$_3$-l-leucyl-pentaglycyl-glycin nicht. Die Länge der Kette spielt anscheinend keine wichtige Rolle (28, 33).

Die hier angegebenen Beispiele bilden nur einen geringen Teil einer großen Versuchsreihe, die von Abderhalden und Mitarbeitern durchgeführt wurde. Sie genügen aber, um die oben angeführte Hypothese, wonach die Länge der Kette und die Natur der Bausteine für die spezifische

Einstellung dieser Fermente auf bestimmte Substrate maßgebend wäre, zu widerlegen. Die Frage nach der Angriffsstelle (im Sinne von Euler und Josephson) wurde auch hier an einem reichen Versuchsmaterial geprüft. Phenylisocyanatverbindungen von Di- und Tripeptiden wurden nur von Trypsin-Kinase gespalten. Auch β-Naphthalinsulfoderivate von Dipeptiden wurden gleichfalls nur von letzterer gespalten (29). Nicht gespalten wurden β-Naphthalinsulfo-glycyl-glycin. Beide Fermente waren unwirksam gegenüber Carboätoxyl-glycyl-glycinester.

Auch weitere Versuche (30) bestätigten den Befund, daß nur diejenigen Polypeptide von Erepsin gespalten werden, die eine freie Aminogruppe enthalten.

Phenylisocyanatderivate von Diglycyl-glycin und Triglycyl-glycin wurden weder von Trypsin noch von Erepsin gespalten (31). Das Tetraglycyl-glycin wird nur von Trypsin-Kinase angegriffen. Auch Ureidoverbindungen (24) zeigten durch die Besetzung der freien NH_2-Gruppe dasselbe Verhalten gegenüber Erepsin. Aber auch Trypsin-Kinase zeigte keine Hydrolyse der untersuchten Ureidoderivate von d,l-Leucyl-glycin, Glycyl-dl-valin und d,l-Leucyl-glycyl-glycin.

Weiter zeigten (32) Phenylisocyanat, Benzoyl- und β-Naphthalinsulfoderivate von d,l-Valyl-glycyl-glycin nur eine Hydrolyse von Trypsin, nicht jedoch von Erepsin. Waldschmidt-Leitz und Mitarbeiter zeigten, daß oft Polypeptide, die von Trypsin-Kinase nicht angegriffen werden, einer Hydrolyse unterliegen, wenn die freie Aminogruppe besetzt wird. Nicht jede Gruppe hat dieselbe Wirkung. „Offenbar bedeutet die Besetzung der freien Aminogruppe ..... eine Lockerung des Polypeptidgefüges (32).“ Halogenacylkörper von Aminosäuren wie: Chloracetyl-l-tyrosin, d,l-α-Brompropionyl-d,l-phenylalanin usw. werden von Erepsin nicht gespalten, sondern nur von Trypsin-Kinase. d,l-α-Bromisocapronyl-l-tyrosin, d,l-α-Bromisocapronyl-d,l-phenylalanin werden auch von Trypsin-Kinase nicht gespalten. Das letzte Beispiel zeigt, daß nicht dem elektronegativen Charakter des Substrates (im Sinne Waldschmidt-Leitz') die entscheidende Bedeutung zukommt. Bei Halogenacylkörpern, an deren Aufbau Leucin und Glykokoll beteiligt sind, sinkt mit der Häufung der Glycylreste die Angriffsfähigkeit durch Trypsin-Kinase. Auch Acylderivate, wie Formylverbindungen, wurden untersucht. Formyl-l-phenylalanin wurde von Trypsin-Kinase gespalten, dagegen blieb Formyl-d-phenylalanin unangegriffen. Von Trypsin-Kinase gespalten wurden Palmityl-l-phenylalanin, Stearyl-d-glutaminsäure; Carbomethoxyl-l-formyl-tyrosin und Carbomethoxyltyrosin wurden nicht hydrolysiert. Die letzten Befunde zeigen, daß die OH-Gruppe des Tyrosins für die Bindung von Trypsin-Kinase keine Bedeutung hat, entgegen der Annahme von Waldschmidt-

Leitz. Immer wieder machen Abderhalden und Mitarbeiter darauf aufmerksam, daß anscheinend: „. . . . nicht eine einzige allgemeine Eigenschaft für die Wirkung von Erepsin bzw. Trypsin-Kinase in Frage kommt", „. . . . die Bindung an die freie NH_2-Gruppe bzw. COOH-Gruppe ist Voraussetzung". Es ist möglich, daß die beiden Fermente Ampholyte sind, die je nach den Bedingungen wirken. Ferner ist es möglich, daß Trypsin ohne Kinase, welches ein sehr verschiedenes Verhalten gegenüber den Substraten zeigt, aus mehreren Teilen besteht und vielleicht noch weiter trennbar ist (32). „Vielleicht liegt eine Art von Grundkörper vor, der mit verschiedenen Gruppen — nach Art von Komplementen — besetzt, verschiedene Wirkungen entfalten kann" (33).

Immer wieder wird betont (34), daß bis jetzt kein Fall bekannt geworden ist, bei dem Erepsin wirksam gewesen wäre, sofern die freie Aminogruppe des Substrates — Polypeptides — besetzt war; „und zwar wird die Einwirkung auf sonst durch Erepsin spaltbare Polypeptide durch diesen Fermentkomplex nicht nur verhindert, wenn Gruppen in die freie Aminogruppe eingeführt werden, die in ihrer Struktur gar keine Beziehung zu Aminosäuren besitzen (Phenylisocyanat-, Benzoyl-, β-Naphthalinsulfo-usw.-Gruppe), vielmehr tritt der gleiche Erfolg ein, wenn Aminosäuren eingeführt werden, die die NH_2-Gruppe nicht in α-Stellung aufweisen; ja, auch die optischen Antipoden von in der Natur vorkommenden Aminosäuren . . . . . nehmen dem genannten Fermentkomplex die Angriffsfähigkeit".

Zur Zeit verfügen wir noch nicht über ein ausreichend großes Versuchsmaterial über die Eigenschaften des Trypsin-Kinase-Komplexes. Waldschmidt-Leitz neigt zur Annahme, daß unter anderem die freie Carboxylgruppe von Polypeptiden maßgebenden Einfluß auf die Trypsin-Kinase-Wirkung hat, d. h. diese Gruppe kommt als Bindungstelle für Trypsin-Kinase in Betracht. Stellt z. B. jene Aminosäure, die die Carboxylgruppe trägt, die optische Antipode des ihr entsprechenden in der Natur vorkommenden Eiweißabbausteines dar, dann bleibt eine Hydrolyse aus. Sie findet jedoch statt, falls die entsprechende in der Natur vorkommende Aminosäure die Carboxylgruppe trägt. Die derzeit vorliegenden Versuche genügen noch nicht zur eindeutigen Entscheidung der Frage nach der Rolle der Carboxylgruppe.

Als weitere Frage ergibt sich, ob der Erepsin- bzw. Trypsin-Kinase-Komplex gegenüber verschiedenen Polypeptiden seine maximale Wirkung bei ein und demselben p_H zeigt, oder ob das optimale p_H bei Anwendung verschiedener Substrate ein verschiedenes ist. Es zeigte sich, daß verschiedenartige Polypeptide nebst ihren Derivaten durch die in Frage kommenden Fermente bei verschiedenem p_H nicht in gleichem Umfange abgebaut werden.

Nach den bis jetzt gesammelten Erfahrungen ist es höchst wahrscheinlich, daß weder Erepsin noch Trypsin-Kinase Komplexe einheitlicher Natur sind. Tatsächlich teilte Waldschmidt-Leitz unlängst mit, daß es ihm gelungen sei, das Erepsin in zwei Komponenten zu zerlegen und die Dipeptidase abzutrennen.

Zugleich beschäftigten sich Abderhalden und Mitarbeiter (35) mit dem Studium von Polypeptiden, bei denen gleichzeitig die Carboxylgruppe und die Aminogruppe besetzt waren. Solche Substrate dürfen nach den bisherigen Annahmen weder von Erepsin noch von Trypsin-Kinase gespalten werden. Das untersuchte Beispiel: N-Methyl-d,l-leucyl-d,l-leucyl-alanin gab wegen seiner Schwerlöslichkeit kein eindeutiges Resultat. Auch wurden eine Reihe decarboxylierter Dipeptide, sogenannte „Peptamine", dargestellt. Die beiden untersuchten Fermente konnten diese Körper nicht angreifen. Außerdem wurde eine Reihe von Verbindungen, bestehend aus Aminosäuren und Verbindungen, die keine Carboxylgruppe aufweisen, wie: Glycyl-anilin, d,l-Alanyl-anilin, d,l-Alanyl-colamin, d,l-Alanyl-diphenylamin usw. geprüft. Erepsin griff außer der letzten Verbindung alle an, Trypsin-Kinase keine.

Es zeigte sich (37), daß Halogenacylverbindungen von α-Aminosäuren und von Polypeptiden von Erepsin nicht angegriffen wurden, während Trypsin-Kinase einige von ihnen spaltet. Erepsinlösungen, denen ein wenig Trypsin beigemischt war, änderten ihr Verhalten und spalteten die Halogenacylverbindungen. Vielleicht bilden Erepsin und Trypsin zusammen einen Komplex, der eine gesteigerte Wirksamkeit zeigt. Es kann auch eine kofermentähnliche Wirkung vorliegen.

Ferner beschäftigten sich Abderhalden und Mitarbeiter mit der Frage (38): „Werden Erepsin und Trypsin durch gleiche Zusätze in gleicher Weise beeinflußt, oder lassen sich charakteristische Unterschiede nachweisen?" Es stellte sich heraus, daß die Verhältnisse sehr kompliziert sind. Bei den Versuchen (39) mit Erepsin zeigte sich, daß die Wirkung einzelner Zusätze bei Anwendung verschiedener Polypeptide in quantitativer Hinsicht eine verschiedene war. Auch ungleiche Fermentpräparate zeigten ein verschiedenes Verhalten. Diese Beobachtung spricht sehr dafür, daß nicht allein direkte Beziehungen zwischen Fermentkomplex und Zusatz in Betracht kommen, sondern auch sekundäre Momente maßgebend sind. Auch war die hemmende Wirkung der einzelnen Zusätze auf die Erepsinwirkung bei verschiedenem p_H verschieden groß. Bei Trypsin-Kinase zeigte Hippursäure eine beschleunigende Wirkung.

Die bisherigen Versuche genügen nicht, um direkte gesetzmäßige Beziehungen zwischen den Zusätzen und dem Ferment festzustellen.

Ferner zeigten (40, 41) Trypsinpräparate, die nach der Methode von Willstätter-Waldschmidt-Leitz dargestellt wurden, gegenüber Acylderivaten von Polypeptiden ein anderes Verhalten als Pankreassaft, Präparate von Abderhalden, welche bei verschiedenem p_H dargestellt wurden und Handelspräparate von Pankreatin.

Diese und noch viele andere Befunde (42) veranlassen Abderhalden und Mitarbeiter zur Annahme, daß der Trypsinkomplex nicht einheitlich ist. Auch sind sie auf weitere Befunde gestoßen, die beweisen, daß die Begriffe Erepsin und Trypsin unzureichend sind, um die Vielseitigkeit der Wirkung der einzelnen Fermentlösungen zu beschreiben. Schon nach fünf Tagen verlor die Erepsinlösung das Spaltungsvermögen gegenüber d,l-Leucyl-glycin, während die Tetrapeptide d,l-Leucyl-glycyl-d,l-leucyl-glycin und Glycyl-d,l-leucyl-glycyl-d,l-leucin noch nach 17 Tagen gespalten werden. Auch zeigten in dieser Beziehung verschiedene Erepsinpräparate verschiedenes Spaltungsvermögen.

Die Befunde von Abderhalden und Mitarbeitern zeigen, „daß es Fermentlösungen gibt, die manche Dipeptide nicht spalten, gleichzeitig aber andere angreifen. Ferner kann eine solche, die bestimmte Dipeptide hydrolysiert, gleichzeitig Tripeptide und ferner einzelne Tetrapeptide aufspalten. Soll man nun annehmen, daß es für die einzelnen Polypeptide je nach der Anzahl der in ihnen verknüpften Aminosäuren besondere Fermentkomplexe gibt?“ Oft sind die Unterschiede zwischen den einzelnen Dipeptiden bedeutend größer, als zwischen Dipeptiden und höhermolekularen Polypeptiden. Offen bleibt die Frage, ob es nötig ist, für jede Wirkungsweise ein spezielles Ferment anzunehmen. „Vielleicht liegen die Verhältnisse auch so, daß neben der Konfiguration des „Fermentmoleküls“ sein gesamter physikalischer Zustand (im Sinne von Fodor) von größter Bedeutung für das Wirkungsvermögen ist.“

Ungefähr zur selben Zeit fand Linderström-Lang (60), daß das hydrolytische Spaltungsvermögen des Darmerepsins gegenüber Glycylglycin und Leucyl-glycin sich aus zwei enzymatischen Wirkungen zusammensetzt, die sich durch verschiedene optimale (H^+) auszeichnen.

II. Theoretischer Teil.

Aus der Zusammenstellung der Literaturergebnisse dieser Arbeit geht, kurz zusammengefaßt, folgendes hervor: Bereits die ältere Fermentwissenschaft war sich darüber im klaren, daß die Aufspaltung eines Proteins in seine Endbausteine durch das Zusammenwirken einer Reihe von differenzierbaren Fermenten ermöglicht wird. Durch die Aufeinanderfolge der Wirkungen von Proteasen und Peptidasen konnte die voll-

ständige Spaltung herbeigeführt werden. Der Begriff der Peptidase (auch Polypeptidase genannt) blieb jedoch weitgehend undefiniert, und man nahm polypeptidspaltende Fermente sowohl im Trypsin als auch im Erepsin an. Dabei wurde die Erepsinspaltung als eine Ergänzung der Trypsinspaltung hingestellt, da man wußte, daß erstere zur Vervollständigung der Hydrolyse in die Endbausteine unbedingt nötig war.

Mit Abderhalden kam man zur Auffassung, daß gewisse Peptidbindungen nur das Erepsin und nicht das Trypsin bewältigen kann.

Soweit es sich um Endofermente der Organe und nicht um die Fermente der Darmsekrete handelte, war die begriffliche Unterscheidung von Trypsin und Erepsin noch unklarer. Hier half man sich in der Weise, daß man die Polypeptidspaltung dem ereptischen Anteil der Endofermente zuschrieb, indes der tryptische Anteil als ein Gemenge einer Protease (analog dem Pepsin) und peptolytischer Fermente angesehen wurde, wobei diesen letzteren, als ihre vornehmliche Wirkung, jene auf die unbekannten und komplizierten Eiweißabbauprodukte, die in den Peptonen enthalten waren, zugedacht wurde.

Als die Willstättersche Schule an die Trennung der proteolytischen Fermente mit Hilfe der Adsorptionsmethode heranging und W. Grassmann (43) die Abtrennbarkeit einer spezifischen Dipeptidase aus den Hefefermenten mitteilte, prüften A. Fodor und R. Schönfeld (44) die peptonspaltende und dipeptidspaltende Wirkung in den sog. Glykokolleluaten. Diese stellen aus Kaolinadsorbaten der Hefefermente mittels verdünnter Glykokollösungen gewinnbare, auf Pepton und Polypeptide wirksame Auszüge dar, die mit Eiweißreagentien keinerlei Fällungen mehr geben und äußerst haltbar sind. Sie entdeckten bei dieser Gelegenheit eine weitgehend genaue Symbasie in der Wirkung auf Pepton einerseits und Dipeptide anderseits. Dieser Befund führte die genannten Autoren zur Vermutung, daß in dem von ihnen benutzten Seidenpepton „Hoechst“ Molgew. 232 Dipeptidkomplexe enthalten waren. Selbstverständlich bedurfte die Frage einer weitgehenden gründlichen Klärung. Soviel kann bereits hier vorausgeschickt werden, daß der Nachweis einer solchen Symbasie nur dort gelingt, wo der Fermentträger einheitlich und auch unveränderlich ist, so daß ein Trägerwechsel nicht eintreten kann. Diesen Anforderungen entspricht nur das Glykokolleluat.

In den letzten Jahren hatten Grassmann und Waldschmidt-Leitz, erstere für die Fermente der Hefe, letzterer für jene tierischer Organe, unter der Zuhilfenahme der Willstätterschen Adsorptionsmethode die einzelnen Fermente zu differenzieren versucht. Die zuerst angenommene Dipeptidnatur des Erepsins konnte, wie wir sahen, nicht aufrecht erhalten werden.

E. Abderhalden hat an Hand eines überwältigenden Versuchsmaterials den Nachweis erbracht, daß das Erepsin auch höhere Peptide spaltet und umgekehrt Trypsin, das nach Waldschmidt-Leitz nur höhere Peptidketten angreifen sollte, auch bestimmte Dipeptide zu spalten imstande ist. Allerdings wurde diese Auffassung in der Folge von Waldschmidt-Leitz abgeändert und dem Erepsin das Wirkungsvermögen einer Aminopeptidase zugeschrieben, indes das Trypsin als ein Gemisch einer Protease und einer Carboxypolypeptidase hingestellt wurde. Danach sollte also die durch die beiden peptidspaltenden Prinzipien angegriffene endständige Gruppe des Peptidmoleküls die spezifische Differenzierung bedingen. Bei dieser Einstellung muß man sich aber genau vor Augen halten, daß die Existenz spezifischer Substratmoleküle (Dipeptide gegenüber höheren Polypeptiden) fallen gelassen und an ihrer statt die spezifische Angriffsweise multipler Peptidmoleküle eingeführt wird. Für die letztere Ansicht hat man aber noch zu wenig beweisende Anhaltspunkte. Insbesondere wird zu prüfen sein, wann ein bestimmtes Peptidsubstrat an der Aminogruppe, bzw. an der Carboxylgruppe angegriffen wird, ob hierbei die saure Natur des Peptides, oder aber die Länge der Kette bzw. die Bausteingruppierung in letzterer ausschlaggebend ist. Wie wir oben gesehen haben, haben sich alle diese variablen Momente bisher für die Unterscheidung der ereptischen von der tryptischen Wirkung auf Peptide nicht bewährt.

Völlig unberücksichtigt wurden bei den bisherigen Erwägungen der verschiedenen Forscher die Möglichkeiten von veränderten Wirkungen infolge von Veränderungen im physikochemischen Zustande des Fermentsystems. Der letztere bedarf hier einer präziseren Definition. Wie aus den früheren Ausführungen hervorgeht (45), wissen wir über das stoffliche Wesen der Fermente nichts, bzw. entgehen uns alle Mittel und Wege, um die Existenz eines „Enzymmoleküls“ nachzuweisen. Wir haben es stets mit mehr oder weniger komplex zusammengesetzten Gemischen zu tun, die wir als Fermentsysteme bezeichnen müssen. Faßbar an einem solchen Fermentsystem war bisher lediglich der Träger des „aktiven Bestandteils“, wogegen wir über diesen letzteren keinerlei Aussagen zu machen in der Lage sind. Wir wissen, daß diese Träger einem natürlich oder künstlich herbeigeführten Wechsel unterliegen und bei ein und derselben Fermentwirkung sowohl kolloid als auch nichtkolloid sein können, doch sind wir nicht imstande irgendeine positive Aussage über den von ihm getragenen aktiven Bestandteil zu wagen.

Der Umstand, daß bei der Dialyse die Fermentwirkung in vielen Fällen erhalten bleibt, darf keinesfalls als Beweis für die Kolloidnatur des aktiven Bestandteils angesehen werden, da diese Tatsache auf der

kolloiden Natur des Trägers selbst beruhen kann. Geht wieder bei der Dialyse die Fermentwirkung in irreversibler Weise verloren, so liegt darin kein Beweis für die nichtkolloide Natur des aktiven Bestandteils, da nach Wegdiffusion der nichtkolloiden Träger der aktive Bestandteil mangels Trägers zugrunde geht, bzw. sich an unbeteiligte Fremdkörper (Filtermaterial usw.) verankert.

So viel uns bekannt ist, ist die Aktivität unbedingt an die Anwesenheit eines Trägers geknüpft. Dieser maskiert sozusagen den aktiven Bestandteil und verleiht dem ganzen System den Charakter. So finden wir bei kolloiden Trägern eine weitgehende Abhängigkeit der fermentativen Eigenschaften (Kinetik, Optimum der Fermentwirkung, Haltbarkeit, Einfluß von Fremdstoffen usw.) vom Dispersitätsgrad des Trägers. Bei Proteinen als Träger werden alle Momente, die den Zustand des Proteins einer Änderung unterwerfen, in paralleler Weise auch die Fermentaktivität beeinflussen. Auffallend ist beispielsweise die Beeinflussung durch den Dispersitätsgrad oder den Hydratisierungszustand des Proteinträgers, die wir durch Säuren, Alkalien und Salze verändern können.

Bei nichtkolloiden Trägern kommen andere verändernde Momente in Betracht, z. B. die elektrolytische Dissoziation bzw. Salzbildung unter dem Einfluß von Säuren und Basen, Löslichkeitsbeeinflussungen usw. Daß bereits geringfügige Variationen in der chemischen Struktur des Trägers bedeutende Folgen in der Fermentwirkung nach sich ziehen, geht aus Versuchen mehrerer Autoren (46) hervor. Unter dem physikalisch-chemischen Zustand eines Fermentsystems müssen wir zwar die Veränderlichkeit sämtlicher Bestandteile verstehen: des Trägers, des unbekannten aktiven Bestandteils, der etwa beteiligten Aktivatoren und des Substrates. Die Analyse reicht jedoch wegen der Komplexität der meisten Fermentsysteme und der unbekannten Natur des aktiven Bestandteiles in der Regel nur bis zur Verfolgbarkeit physiko-chemischer Zustandsänderungen des Trägers und des Substrates.

Ganz erheblich wird aber ein Fermentsystem durch den Trägerwechsel beeinflußt werden können. Solche ergeben sich in der Regel dann, wenn in die Lösung des Fermentsystems fremde Stoffe gelangen, oder aber wenn autolytische Vorgänge innerhalb der Fermentlösung neue Substanzen hervorbringen. Endlich treten auch die Reaktionsprodukte der Fermentwirkung als neue Träger auf. In allen diesen Fällen kommt es zu einer Art Verteilung der aktiven Materie zwischen dem ursprünglichen und den neuen Trägern, so daß das Substrat, das sich mit der aktiven Materie beladen muß (wobei es selbst bis zu seiner eingetretenen Veränderung selbst zum Träger wurde), nicht mehr jenen allein gegenübersteht, sondern einem Gemisch von mehreren Trägern. War die etwaige

Autolyse vollständig, so wird das Substrat völlig neuen Trägern gegenübergestellt.

Im Sinne der schon von der älteren Fermentchemie erkannten Tatsache verbindet sich das Substrat mit dem „Ferment". Im Gegensatz zu jenen Autoren (47), die diese Verbindung mit Hilfe des Massenwirkungsgesetzes deuten wollen, sehen wir in ihrer Entstehung einen Vorgang der Dislokation, bei dem das Substrat und die einheitlichen oder multiplen Träger als Konkurrenten um die aktive Materie auftreten. Bei dieser Konkurrenz werden selbstverständlich die physiko-chemischen Bedingungen, denen die einzelnen Bestandteile des Fermentsystems — die beteiligten Träger und das Substrat — ausgesetzt sind, eine große Rolle spielen. Inwieweit der Begriff der chemischen Affinität zwischen dem Träger bzw. dem Substrat und der aktiven Substanz, bzw. das Massenwirkungsgesetz in Frage kommt, läßt sich zur Zeit nicht entscheiden. Es ist überhaupt sehr fraglich, ob hier die Gesetze der chemischen Gleichgewichtslehre unbeschränkte Geltung haben.

Besonders schwierig gestalten sich die Verhältnisse, wenn ein multiples Trägersystem vorliegt. Nach den Gesetzen der Gleichgewichtslehre sollte die Verteilung der aktiven Materie unter den Trägern und dem Substrat nach Maßgabe der einzelnen Affinitäten vor sich gehen, wie etwa einer Base unter mehreren Säuren verschiedener Stärke. Zahlreiche Beobachtungen sprechen jedoch dafür, daß es sich in Fermentsystemen anders verhält. Das Substrat disloziert die aktive Materie im Falle multipler Träger aus der einen Trägerbindung in einem anderen Maße, als dies der Fall ist, sobald sich dieser Träger allein in Lösung befindet.

Zur Illustration dieser Verhältnisse möge folgendes Beispiel angeführt werden: wie wir später hören werden, befinden sich in einer Suspension eines Pankreatinpräparates zwei Träger der Peptonspaltung, von denen der eine unlöslich ist und vom löslichen Anteil durch Filtration abgetrennt werden kann. Führen wir die Spaltung einer 5%igen Peptonlösung einmal mit der Suspension durch und sodann mit dem Rückstand, ferner mit dem Filtrat (der Rückstand wird nach dem Auswaschen auf das Volumen der ursprünglichen Suspension gebracht), so erhalten wir folgende Zahlen:

Verbrauch an $^{n}/_{10}$-NaOH nach Sörensens Methode.
Differenz nach 20 Stunden:

Suspension	Rückstand	Filtrat
5,80 ccm	3,35 ccm	5,45 ccm

Man ersieht aus den Titerwerten, daß die Beteiligung des Rückstandträgers im Vergleich zum Filtratträger in der vereinigten Suspension nur

eine sehr geringe sein kann, da ja das Filtrat für sich allein in seiner Wirksamkeit der der Suspension nur um ein weniges nachsteht, wogegen der Filtratträger für sich allein eine bedeutende Wirkung ausübt. Bei einer Konkurrenz der beiden Träger in der Suspension wird somit der leichter dislozierbare Filtratträger bevorzugt. Ähnlichen Beispielen begegnet man auf Schritt und Tritt. Zugleich bemerken wir, daß von einer Partizipierung des Substrates am aktiven Stoff im Sinne des Massenwirkungsgesetzes bzw. von auf Grund des letzteren aufstellbaren Affinitätskonstanten keine Rede sein kann. Vielmehr liegt der Fall so, daß bei der Dislokationsmöglichkeit aus mehreren Trägern das Substrat aus noch unbekannten Gründen einen bestimmten von ihnen bevorzugt. Vielleicht spielt dabei die leichtere Dislokation eine Rolle, die durch die bestehenden physiko-chemischen Verhältnisse gegeben ist. Dadurch verschiebt sich die Reaktion vom Mechano-chemischen zum Reinmechanischen. Im oben gegebenen Beispiele wirkt der Filtratträger infolge seiner wahren Löslichkeit besser als der Rückstandträger, der nur fein suspendiert ist, und wird aus diesem Grunde vom Pepton bevorzugt.

Mit dem Trägerwechsel bzw. bei der Verteilung der aktiven Materie auf mehrere Träger unterliegt somit das Fermentsystem in seinem Charakter bedeutenden Veränderungen. Die Träger können, wie dies bereits aus dem Gesagten hervorgeht, der aktiven Substanz eine verschieden große Labilität verleihen. Auf der anderen Seite kann ein Träger die Stabilität der aktiven Materie sichern und erstere bis zur Inaktivität des Systems steigern. A. Fodor (45) bezeichnet die Träger, die die aktive Substanz in einer so extremen Form stabilisieren, als nichtzymophore Träger, zum Unterschiede von den zymophoren, die sodann wieder in zymostabile oder zymolabile eingeteilt werden können. Begibt sich die aktive Substanz aus einer zymostabileren in eine zymolabile Bindung, so erfolgt ein Vorgang, den man als Dislokationsaktivierung bezeichnet hat (48, 49).

Besonders auffallend ist der Effekt des Trägerwechsels bzw. der Übergang auf neue und zymolabile Träger beim Prozeß der Autolyse. Die von E. Abderhalden und A. Fodor (50) zum ersten Male beobachtete Induktionszeit bei der Dipeptidspaltung durch Hefemazerate läßt sich auf den Umstand zurückführen, daß die aktive Materie von ihrem originären Träger, der nach den Befunden von A. Fodor (51) das Hefephosphorprotein darstellt, auf neue Träger übergeht, die bei der Autolyse dieses Proteins gebildet werden. Daher ist die Kurve bei frisch hergestellten Mazeraten eine scheinbar autokatalytische. In Wirklichkeit wird die Zymolabilität des Fermentsystems durch den Trägerwechsel gesteigert.

Aber nicht bloß durch Autolyse kann eine Dislokationsaktivierung zutage treten, sondern auch durch entsprechende Zusätze. So erwies sich, daß ein Zusatz von verschiedenen Aminosäuren zu frisch dargestellten Hefemazeraten das peptonspaltende Vermögen der letzteren steigert, wogegen in gelagerten Mazeraten diese Wirkung ausbleibt (52, 53). Die Deutung dieses Phänomens ist die gleiche: bei frischen Mazeraten wirkt die zugesetzte Aminosäure dislozierend und übernimmt in partieller Weise vom originären Proteinträger die aktive Materie, der dadurch eine größere Zymolabilität gewährt wird. Bei gelagerten Mazeraten ist dies nicht mehr der Fall, da hier infolge Autolyse der Übergang der aktiven Substanz auf zymolabilere Träger bereits vollzogen ist. Hier pflegen durch die Zusätze häufig Hemmungen wahrnehmbar zu sein, da sie als Träger eine geringere Labilität sichern, als die autolytischen Abbauprodukte.

Wie von A. Fodor mehrfach hervorgehoben wurde, ist es für das Verständnis der Fermentwirkung von unbedingter Wichtigkeit, sowohl die Natur und die stoffliche Identität der nativen Träger zu kennen, als auch jene der von diesen entstehenden autolytischen Abkömmlinge. Auf dem Gebiete der peptidspaltenden Fermente wurde für die Hefe (48) und für die Pankreasdrüse (54) als nativer Träger ein Phosphorprotein nachgewiesen. Ferner wurde für die Hefe dargetan, daß auch das Glykokoll als Träger der peptidspaltenden Fermente fungieren kann. Die Darstellbarkeit der sog. Glykokolleluate (55), die man durch die Elution von Kaolinadsorbaten des aktiven Bestandteils der Hefe mit Hilfe verdünnter Glykokollösungen bei 37° gewinnen kann und die ein äußerst beständiges Fermentsystem darstellen, beweisen diese Behauptung. Es ist also offenbar nach dem hier Gesagten, daß die aktive Materie der Peptidspaltung den Weg vom originären Proteinträger über alle möglichen Zwischenstufen bis zum Eiweißabbaustein Glykokoll als Träger zurücklegen kann, und daß sie dabei ihre Zymolabilität mehrfach ändert, je nach der Natur des aktuellen Trägers.

Bei diesem Wechsel der Zymolabilität mit dem Träger muß es sich aber nicht lediglich um eine Verlangsamung bzw. Beschleunigung der Verbindungsfähigkeit der aktiven Materie nach ihrer Dislokation durch ein und dasselbe Substrat handeln. Es kann vielmehr auch der Fall eintreten, daß mit dem veränderten Träger ein früher scheinbar inaktives Substrat dislozierend einwirkt und auf diese Weise der Eindruck erweckt wird, daß neue Fermenteigenschaften oder gar spezifische Einstellungen entstanden sind. Das Auftreten tryptischer Eigenschaften beim Hinzufügen von HCN zum Papain im berühmten Beispiel von Willstätter läßt sich, wie A. Fodor hinwies (45), auf diese Weise erklären. So

auch wahrscheinlich manch andere Aktivierungen, die uns heute ganz unverständlich vorkommen.

Worin auch immer das stoffliche Wesen der vom Träger maskierten aktiven Materie (nach A. Fodor „zymoaktive Substanz“) bestehen mag, so liegt es doch auf der Hand, daß ihre Reaktionsfähigkeit und Dislozierbarkeit durch den Übergang auf neue Träger oder mit der Herbeiführung neuer Trägereigenschaften durch Zusätze bedeutenden Veränderungen unterworfen werden; etwa in Analogie mit einem elektrischen Konduktor, dessen Kapazität bzw. dielektrische Eigenschaften und cet. par. Potential von der Substanz des Konduktors abhängig sein werden.

III. Versuchsteil.

Die in dieser Mitteilung beschriebenen Versuche hatten als generelles Ziel, Dipeptidasen in Mazeraten und in Präparaten von Pankreasdrüsen in möglichst verschiedenen und veränderten Milieus zu untersuchen, wobei aber nicht allein auf die veränderte (H^+)-Konzentration Wert gelegt wurde, wie dies früher immer geschah, sondern, im Sinne der obigen Darlegungen, auch die Veränderungen in Betracht gezogen wurden, die mit dem eintretenden Trägerwechsel im Milieu auftreten (56).

Als Kriterium von veränderten Trägern dienten folgende Momente:

a) Der Träger ließ sich auf Grund seiner chemischen Eigenschaften unmittelbar erkennen. Dieser Fall wird meist nur dann realisierbar sein, wenn sich aus dem Fermentauszug ein chemisch definierbarer Bestandteil etwa durch Fällung isolieren läßt, der sich in eklatanter Weise als Fermentträger erkennbar macht. Oder aber, wenn aus einem Trockenpräparat eines Fermentes alle Bestandteile bis auf einen Rückstand herauslösbar sind, der sich ebenfalls als ein chemisch definierbarer Träger erweist. Selbstverständlich muß die aktive Materie in beiden Fällen „waschecht“ an diesem selbst unlöslichen Träger verankert sein, sonst kann man die Substanzen nicht als Träger ansprechen. Beide Fälle wurden in unseren Versuchen verwirklicht. So wurden, wie u. a. in den technischen Vorbemerkungen erwähnt wird, aus Mazeraten aktive Säurekoagula hergestellt, die, wie ausführliche Versuche von A. Fodor (57) zeigten, ein Phosphorprotein mit 14,98% N und 1,73% P (bezogen auf die Hauptfraktion) darstellen. Ferner wurde der als Träger erkannte Auswaschrückstand von Pankreatin-Trockenpräparaten dargestellt und verwendet.

b) Viel schwieriger ist die Identifizierung von Trägern, die löslich sind und womöglich Gemische bilden. Sie können z. B. bei der Eiweißautolyse gebildet werden, oder aber bereits vorher aus den verarbeiteten Zellen bzw. Geweben extrahiert worden sein. In den meisten Fällen

werden wir auf ihre Natur nur in mittelbarer Weise folgern können, indem wir ihre Entstehung durch forcierte autolytische Bedingungen begünstigen, auf diese Weise die Folgen für die Fermentwirkung eruieren und endlich, indem wir sie aus dem Milieu durch Dialyse wieder entfernen. Dabei leistet uns die Kenntnis des Umstandes gute Dienste, daß sich beispielsweise die aktive Substanz in Peptidasesystemen mit Eiweißabbauprodukten allgemein leicht verbindet und daß man diese Verankerung voraussetzen darf. Die erwähnten Versuche mit Hefe belehrten uns, daß das Glykokoll ein recht brauchbarer und relativ labiler Träger der aktiven Substanz der Peptidasesysteme darstellt. Auf der anderen Seite erfuhren wir, daß auch Eiweiß als Träger der gleichen Fermentsysteme fungiert. Es ist also offenbar, daß Produkte, die zwischen den Aminosäuren und dem Eiweiß liegen, als Träger ebenfalls in Frage kommen.

c) In besonders günstig liegenden Fällen lassen sich durch Elutionen mit reinen bekannten Elutionsmitteln, wie bei den erwähnten Kaolinadsorbaten aus Hefemazeraten, Eluate herstellen, die durch ihre Reinheit (sie sind frei von fällbarem Eiweiß), die Rolle des Trägers zu erkennen geben. In dieser Versuchsreihe glückte die Anwendung dieser Methode, die uns bei der Hefe so gute Dienste geleistet hat, leider nicht, ebenso wenig wie bei den untersuchten Leguminosen (58).

d) Daß man durch die Wirkungen entsprechender definierter Zusätze auf die evtl. Trägernatur der letzteren Schlüsse ziehen kann, geht aus den erwähnten Befunden über die Dislokationsaktivierung durch Aminosäuren hervor. Von dieser Möglichkeit wurde in den folgenden Versuchen Gebrauch gemacht.

Die hier gegebene Einteilung wurde dem stofflichen Inhalte unserer Versuche zugrunde gelegt.

Bisher wurde von uns nur schlechterdings von „Peptidasen“ gesprochen, ohne die Möglichkeit einer Einteilung dieser Fermentsysteme etwa im Sinne von Waldschmidt-Leitz in Erwägung zu ziehen. Die umfassenden Untersuchungen von E. Abderhalden und seinen Mitarbeitern berechtigen uns jedoch zu einer unbefangenen Stellungnahme zu jener Einteilungsmöglichkeit; anderseits sollte durch unsere Experimente, denen Parallelversuche mit verschiedenen Peptonen und Peptiden zugrunde liegen, die Frage geprüft werden, ob man a priori eine Vielheit von Peptidasen anzunehmen berechtigt ist, oder ob lediglich unterschiedliche Träger eine solche Vielheit scheinbar hervorbringen. Gleichzeitig sollen diese Versuche dazu dienen, durch den Vergleich der Peptonspaltung, also eines chemisch unbekannten Substrates, mit der Spaltung von bekannten Dipeptiden, bzw. höheren Peptiden, einen Beitrag zur Aufklärung des Wesens der Peptone zu liefern. Diesbezügliche Anfänge sind bereits

in der erwähnten Mitteilung von A. Fodor und R. Schönfeld gemacht worden.

Im Sinne der oben gemachten Erwägungen wurden auch dementsprechende Fermentmilieus in technischer Beziehung hergestellt. Die folgende Aufstellung zeigt, auf welche Weise die einzelnen Auszüge bzw. Präparate bereitet worden sind.

Technische Vorbemerkungen.

Darstellungsmethode der Pankreasmazerationssäfte.

Ganz frische Pankreasdrüsen von Rindern (palästinensisch-arabischer Rasse) wurden bei möglichst niedriger Temperatur (in Eispackung) vom Schlachthof bezogen. Nach gründlichem Waschen mit Leitungswasser wurden sie von Fett, Bindegeweben und Blutgefäßen befreit, durch eine Fleischmaschine getrieben und fortgesetzt gewaschen, bis das Waschwasser klar blieb.

Zur Feststellung des ungefähren Gewichtes der Drüsen wurde möglichst viel Wasser aus der ausgewaschenen zerkleinerten Drüse durch Auspressen in einem Koliertuch entfernt. Daraufhin wurde die Drüse in einer Reibschale mit Sand gut verrieben und mit der doppelten Wassermenge (auf das Gewicht der Drüse bezogen) unter ständigem Rühren vermengt. Das so dargestellte Mazerat wurde 24 Stunden lang im Eisschrank stehen gelassen und sodann durch Faltenfilter filtriert. Sehr bald ist die abfließende Flüssigkeit vollkommen klar. Die Mazeration wird in der Kälte vorgenommen, um eine zu starke Autolyse und damit eine Anreicherung von Abbauprodukten, besonders solcher, die titrierbare Aminogruppen besitzen, zu vermeiden. Solche Abbauprodukte beeinflussen die Fermentwirkung und stören die Titration nach Sörensen.

Die, wie eben beschrieben, erhaltenen Mazerate spalten Gelatine, verschiedene Peptone, Dipeptide und Tripeptide (siehe Substrate). Das p_H der Säfte liegt zwischen 6,3—6,7. Sie sind sehr gut haltbar, ihr Wirkungsbereich ändert sich jedoch mit dem Aufbewahren. Gegenüber Glycyl-glycin werden sie nach längerem Lagern inaktiv oder sehr schwach wirksam (siehe darüber in den folgenden Darlegungen).

Darstellung von „eiweißfreien“ Filtraten.

Die wie oben beschriebenen Mazerationssäfte wurden 3 oder mehr Stunden bei 37° und weitere 20 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Ein Anteil des vorbehandelten Saftes wurde mit Kaolin versetzt und eine geeignete Zeit hindurch mit diesem geschüttelt. Die so gewonnenen Filtrate gaben keine Essbach-Reaktion auf Eiweiß und spalten ziemlich gut Pepton, sind aber unwirksam gegenüber Glycyl-glycin.

Darstellung eines sogenannten Säurefiltrates.

Eine abgemessene Menge eines frischen Mazerates von $p_H = 6{,}3$ wurde mit $^n/_1$-HCl auf etwa $p_H = 5{,}0$ angesäuert und die entstandene Ausflockung während $^1/_2$ Stunde absitzen gelassen und hierauf vom Säurekoagulum filtriert. Das Filtrat wurde nachher mit der entsprechenden Menge $^n/_1$-NaOH auf $p_H = 7{,}8$ gebracht. Das so dargestellte Säurefiltrat spaltet Witte-Pepton gut, verflüssigt Gelatine, ist aber gegenüber Dipeptiden, wie Glycyl-glycin und Leucyl-glycin, vollkommen unwirksam.

Außer der selbstverarbeiteten Drüse wurde ein Handelspräparat des Pankreatins von der Firma Parke, Davis & Co., London, verwendet. Dieses löste sich nur zu einem Teil in Wasser, indes sich ein anderer Teil nur in Suspension begab. Es wurden sowohl Suspensionen, als auch Filtrate dieses Präparates in verschiedenen Konzentrationen verwendet (Näheres in den Versuchen selbst).

Substrate.

Als Substrate dienten Handelspräparate von verschiedenen Peptonarten und selbst dargestellte Polypeptide. Verwendet wurden: Pepton Witte, Seidenpepton Riedel, Pepton Roche usw. Von Dipeptiden wurden geprüft: Glycyl-glycin, das nach der bekannten Methode von Emil Fischer aus Glycinanhydrid, oder durch direkte Kuppelung von Chloracetylchlorid mit Glykokoll und nachherige Amidierung dargestellt wurde, ferner d,l-Leucyl-glycin und d,l-Leucyl-glycyl-glycin, die ebenfalls nach der Methode von E. Fischer gewonnen wurden. Das zur Verwendung gekommene Bromisocapronylpentaglycyl-glycin wurde nach E. Fischer („Aminosäuren und Polypeptide", S. 557) dargestellt.

Methodik.

Zur Beobachtung des Fortschreitens der Fermentwirkung wurden die Ferment-Substratmischungen bei der entsprechenden Temperatur in Thermostaten aufbewahrt. Die Zunahme — bei der fortschreitenden Hydrolyse — von NH_2-Gruppen wurde durch die Differenztitration nach Sörensen verfolgt.

Die (H^+)-Konzentration wurde mit Hilfe der gebräuchlichen Anordnung unter Verwendung eines Kapillarelektrometers während des Versuches dauernd gemessen.

Bezüglich der Methodik ist noch zu erwähnen, daß wir, in weitaus der Mehrzahl der Fälle, Anfangsgeschwindigkeiten der Fermentwirkung gemessen haben, da gerade diese besonders charakteristisch sind. Bei einer Ausdehnung der Spaltung auf eine längere Zeit holen

sich die Fermentverläufe ein, so daß man sich häufig kein Urteil über die Wirksamkeit in den einzelnen Fällen bilden kann. Die Anfangsimpulse geben uns auch noch aus anderen Gründen mehr Aufschluß über die Fermentwirkung in einem gegebenen Milieu. Es kommt wiederholt vor, daß erstere zunächst sehr schwach, fast Null ist und erst im Milieu sich auszubilden scheint. Man hat diese Erscheinung als Induktion bezeichnet (s. o.). Ist man nicht in der Lage den Kurvenverlauf über viele Stunden kontinuierlich zu beobachten, was häufig wegen Mangel an Material nicht angängig ist, so darf man sich im allgemeinen mit der ersten Reaktionsphase begnügen, vorausgesetzt, daß man Werte jenseits der durch die Methode bedingten Fehlergrenze erhält.

* * *

Unsere Versuche werden in acht Gruppen (I—VIII) eingeteilt, jede derselben umfaßt eine Anzahl von Serien, die mit arabischen Ziffern bezeichnet sind. Das übrige geht aus den betreffenden Tabellen hervor.

Gruppe I (1—5) enthält die Messung der Pepton- und Glycyl-glycin-Spaltung durch Mazerate, sodann durch vom Eiweiß mittels der Kaolinadsorption befreite Mazerate (sog. eiweißfreie Filtrate) und endlich durch Pankreatinpräparat. Das letztere kann man entweder selbst bereiten (Behandlung des hinreichend vorbereiteten Drüsenmaterials durch Äther und Azeton, worauf Schnelltrocknung erfolgt), oder aber man benützt ein gutes käufliches Präparat. Dasjenige von Parke Davis & Co., London, ist hochaktiv.

Wir finden zunächst, daß Witte-Pepton und Riedel-Pepton durch Mazerat am besten gespalten werden, viel schwächer Gelatinepepton, noch weniger Seidenpepton Roche und am allerschwächsten Kaseinpepton. Den Einfluß der Fermentkonzentration bei Witte-Pepton ersieht man aus Serie 2. Es tritt hier die bei Fermentreaktionen bekannte Erscheinung zutage, daß über eine bestimmte Fermentmenge hinaus die weitere Steigerung der letzteren von geringem Einfluß ist. Auffallend ist die gute Haltbarkeit der Mazerate in bezug auf die Peptonspaltung. In Serie 3 sehen wir den Einfluß der Kaolinbehandlung von Mazeraten auf die Aktivität (eiweißfreies Filtrat). Hierzu wäre zu bemerken, daß sich eine Vorautolyse bei 37°, durch die die Fermentwirkung allerdings um ein bedeutendes geschwächt wird (s. Tabelle), als zweckmäßig erwiesen hat, da sonst die zur Entfernung des Eiweißes erforderlichen Kaolinmengen zu groß werden, wodurch der Filtration Schwierigkeiten erwachsen. Die Aktivität der eiweißfreien Filtrate beträgt nur einen Bruchteil von jener im ursprünglichen Mazerat.

Die natürliche Azidität der Mazerate beträgt entsprechend $p_H = 6{,}3$ bis 6,7. Bei dieser schwachen Säuerung ist die Haltbarkeit eine recht

beträchtliche, besonders bei niederer Temperatur. Wie wir später sehen werden, wird die Aktivität auf Pepton bei einer solchen Lagerung gesteigert, diejenige auf Glycyl-glycin dagegen vermindert. Eine starke Schädigung erleiden beide Arten der Spaltung bei Aziditäten von etwa entspr. $p_H = 4$ bzw. $= 8{,}7$, besonders bei 37° (Serie 4) und insbesondere die Glycyl-glycin-Spaltung, die dabei auf Null herabgesetzt wird.

Serie 5 beschäftigt sich mit dem Pankreatinpräparat bei verschiedenen Konzentrationen. Man beachte die relativ geringe Abhängigkeit der Peptonspaltung von höheren Fermentmengen, indes dies bei der Dipeptidspaltung nicht der Fall ist.

Bereits diese Versuchsreihen geben uns gewisse Andeutungen darüber, daß zwischen der Pepton- und Glycyl-glycin-Spaltung merkbare Unterschiedlichkeiten bestehen. Insbesondere die differente Haltbarkeit beider unter extremen Aziditätsbedingungen sprechen für eine „verschiedene Fermentnatur“. Diese Möglichkeit sollte von uns des näheren untersucht werden. Am geeignetsten schien uns zu diesem Zweck das Pankreatinpräparat zu sein. Mit dieser Frage beschäftigen sich die Versuche der

Gruppe II (1—5). Suspensionen von aktiven Pankreatinpräparaten lassen sich leicht filtrieren und hinterlassen einen gut auswaschbaren Rückstand. Filtrat und Waschflüssigkeit sind glasklar. Sowohl der unlösliche Rückstand, als auch das Filtrat erweisen sich als aktiv gegenüber Pepton. Auf Dipeptide dagegen wirkt spontan nur der Rückstand, den man zwecks Aktivitätsprüfung in Wasser suspendiert. Bei einer mehrstündigen Einwirkung des Filtrates auf Glycyl-glycin jedoch tritt eine Wirkung auf das letztere erst allmählich in Erscheinung. Es scheint also eine lange Induktionszeit vonnöten zu sein. Die Ausdeutung dieser Erscheinung soll von uns später vorgenommen werden.

In Serie 1 und 2 bemerken wir die bereits eingangs erwähnte Erscheinung, nach der die Peptonspaltung im Filtrat und in der Gesamtsuspension fast von der gleichen Größenordnung sind, so daß die Wirkung durch den Rückstand allein sozusagen „als Gewinn“ dazukommt. Vergleichbare Werte enthält die Serie 3, wo die Suspension des Rückstandes im ursprünglichen Volumen erfolgte. Ganz anders im Falle der Dipeptidspaltung, bei der Filtrat + Rückstand etwas weniger ergeben wie die Suspension, und wo die Hauptwirkung auf den Rückstand fällt.

In 4 findet man die Endwerte der Spaltung verschiedener Peptone und Polypeptide bei Verwendung des wasserlöslichen und unlöslichen Anteils des Pankreatinpräparates. Wir sehen, daß in diesen sich bis 48 Stunden ausdehnenden Versuchen die Peptone und das Tripeptid vom Filtrat besser gespalten werden, als vom Rückstand; umgekehrt das

Dipeptid. Der Endwert der Dipeptidspaltung ist nach Ablauf von 23 Stunden für den Rückstand bereits erreicht, nicht aber für das Filtrat, wo der Titer nach dieser Zeit 71% vom 48-Stundenwert beträgt. Der Grund liegt darin, daß die dipeptid-spaltende Eigenschaft des Filtrates, wie wir sie in den Serien 1, 2 und 3 sehen, anfangs beinahe Null ist und erst im Laufe der Versuchszeit bemerkenswert wird. Aber auch nach 48 Stunden ist der Endwert des Dipeptides im Filtrat noch nicht erreicht.

Auf der anderen Seite wird das Tripeptid, so wie die Peptone, durch den Rückstand nur unvollständig gespalten, was besonders beim Tripeptid zum Ausdruck kommt. Soviel läßt sich feststellen, daß die Spaltung durch Filtrat und Rückstand des Pankreatinpräparates für Peptone und Tripeptide auf der einen und für Dipeptide auf der anderen Seite einen verschiedenen Charakter hat. Das Pepton wird in der Gesamtsuspension fast ausschließlich vom wirksamen Bestandteil des Filtrates angegriffen. Das Dipeptid spontan von jenem des Rückstandes und nach einer beträchtlichen Induktionszeit auch durch das Filtrat. Das Tripeptid hingegen verhält sich den Peptonen analog und wird ebenfalls vom Filtrat viel leichter angegriffen als vom Rückstand.

Zum Verständnis späterer Erörterungen sei auf die Serie 5 hingewiesen, wonach weder der Rückstand noch das Filtrat α-d-Bromisocapronyl-pentaglycyl-glycin angreifen.

Gruppe III (1—3) enthält kinetische Messungen: durch frisches Mazerat, gelagertes Mazerat und das Säurefiltrat, das mit dem Filtrat des Pankreatinpräparates so gut wie identisch ist. Als Substrat diente Witte-Pepton. Aus den zugehörigen Kurven ersieht man, daß der Verlauf in frischen Mazeraten ein rein linearer ist, entsprechend der Gleichung:

$$K = \frac{x}{t}$$

wogegen die Spaltungen mit den beiden anderen Medien wahre Kurven ergeben. Eine analoge Beobachtung wurde seinerzeit von A. Fodor und Ch. Epstein(59) gemacht, und zwar bei der Peptonspaltung durch Fermente der Hefe in verschiedenen Milieus. Auch dort zeigte es sich wie in diesen Versuchen, daß in einem eiweißhaltigen Milieu die Peptonspaltung linear verläuft, in einem eiweißfreien dagegen gekrümmt. Das gelagerte Mazerat in unserem Falle ist zwar nicht so vollständig eiweißfrei wie das Säurefiltrat, jedoch infolge einer Autolyse von 7 Tagen an Eiweißabbauprodukten sehr stark angereichert. Treten diese als Träger der aktiven Substanz mit ins Spiel, so wird das Peptonsubstrat sie bevorzugen, wie uns darüber die Versuche mit den beiden Anteilen des Pankreatinpräparates unterrichten. Aus diesem Grunde wird der Kurvenverlauf mit

dem im Säurefiltrat identisch sein, in dem die Anwesenheit von Eiweiß a priori ausgeschlossen ist.

Wir dürfen nach so vielen Versuchen mit Fermenten differenter Herkunft die Behauptung aufstellen, daß Eiweiß als Träger in der Peptonspaltung Reaktionen nullter Ordnung bedingt, was offenbar mit den topischen Bedingungen der Dislokation im Zusammenhang steht.

Gruppe IV, (1—4) beschäftigt sich mit der optimalen ($\overset{+}{H}$) Konzentration.

Das optimale p_H der Peptonspaltung durch ein gelagertes Mazerat in Gegenwart von Phosphatpuffern wurde zwischen 7,20—7,50 gefunden. Jenes durch das Filtrat des Pankreatinpräparates liegt zwischen 7,47—7,73, woraus sich als Mittel ein $p_H = 7{,}59$ ergibt.

Das Optimum der Dipeptidspaltung durch die Suspension des Pankreatinpräparates (wie wir wissen, wirkt darin im wesentlichen nur der Rückstandsanteil) beträgt entspr. $p_H = 7{,}96$ und jenes der Peptonspaltung durch den unlöslichen Rückstand des Pankreatinpräparates entspr. $p_H = 7{,}78—8{,}50$, was ein Mittel von 8,00 ergibt.

Als Ergebnis dieser Versuche sind wir in der Lage die Behauptung aufzustellen, daß die Peptonspaltung durch ein gelagertes Mazerat und ebenso durch den löslichen Anteil des Präparates (beide enthalten, wie wir gehört haben, Nichteiweiß als Träger) bei deutlich größeren Aziditäten optimal verläuft als die Peptonspaltung und die Dipeptidspaltung durch die Vermittlung von Protein als Träger.

Gruppe V (1—10) enthält Versuche über die Haltbarkeit bei der Lagerung unter verschiedenen Bedingungen. Serie 1 besagt, daß die Lagerung eines Mazerates von 24 Stunden bei 5° noch keine merkbare Veränderung der Wirksamkeit hervorbringt. Dafür sprechen bei 25° und 37° gemachte kinetische Messungen. Wie die Figur zeigt, verlaufen beide Spaltungen linear, was nach dem Gesagten so gedeutet werden muß, daß als Träger das Protein funktioniert. In Serie 2 finden wir, daß die Peptonspaltung bei der Behandlung des Mazerates 6 Tage lang bei 5° etwas zurückgeht, die Glycyl-glycin-Spaltung aber Null wird. Auf diese Erscheinung werden wir später zurückkommen.

In Serie 3 wird der Einfluß der Temperatur und (H^+)-Konzentration auf die Lagerung geprüft. Zunächst sehen wir, daß bei 40stündiger Vorbehandlung die Dipeptidspaltung bei $p_H = 6{,}30$ erhalten bleibt, beim d,l-Leucyl-glycin allerdings bei 25° etwas leidet. Bei $p_H = 8{,}70$ dagegen wird die Dipeptidspaltung völlig aufgehoben, indes die Peptonspaltung noch merklich stark bleibt.

Der Einfluß der Zeit auf die Änderung beim Lagern kommt in Nr. 4 zum Ausdruck. 20° und 21 Tage genügen bei einer Azidität zwischen

$p_H = 6{,}30$ und 6,70, damit die Dipeptidspaltung ganz stark herabsinkt, indes die Reduktion der Peptonspaltung noch nicht 50% beträgt.

Merklich verschieden von den bisherigen sind die Ergebnisse der Dipeptidspaltung, wenn das Mazerat sehr lange gelagert hat. So sehen wir in Serie 5, daß erstere bei einem Mazerat, das 2 Monate alt war, noch deutlich erhalten blieb und trotz der nachfolgenden energischeren Vorbehandlung bei 37° nicht zum Verschwinden gebracht wurde, während die Peptonspaltung dabei sehr stark litt.

Nr. 6 zeigt, daß die Peptonspaltung nach 48stündiger Vorbehandlung bei 25° eines ziemlich frischen Mazerates ein wenig ansteigt und lediglich bei 37° stark geschädigt wird.

Ein anderes Bild geben die mit Kaolin behandelten Mazerate. Die Abwesenheit der Proteinträger manifestiert sich hier in der Unabhängigkeit des Spaltvermögens von der Vorbehandlung bei beliebiger Temperatur zwischen 5 und 37° und neutraler Reaktion (Serie 7).

In Serie 8 finden wir jedoch bei stärkeren Aziditäten bzw. Alkalitäten eine mit der Temperatur ansteigende Verringerung des Wirkungsgrades, die man mit einer Temperaturschädigung erklären muß. Serie 9 zeigt das gleiche bei einem Säurefiltrat.

In der letzten Serie (10) der Gruppe V wird die Vorbehandlung von Suspensionen des Pankreatinpräparates verfolgt. Es fällt auf, daß die Schädigung bei $p_H = 4{,}40$ nach 40 Stunden bei 5° nicht viel geringer ist, als nach 20 Stunden bei 37°. Dies bezieht sich sowohl auf die Pepton- als auch auf die Glycyl-glycin-Spaltung, die bereits nach der Vorbehandlung bei 5° unter dieser Aziditätsbedingung auf Null herabsinkt. Die Schädigung durch das Säuremilieu ist hier auffallend. Bei den anderen p_H-Werten tritt starke Schädigung erst bei 37° ein, was dafür spricht, daß hier die Temperatur die unmittelbare Ursache ersterer ist.

Fassen wir die Ergebnisse dieser in Gruppe V beschriebenen Versuche zusammen, so ergibt sich, daß abgesehen von Schädigungen durch die Temperatur von 37° bzw. durch extreme p_H-Werte, somit unter milden Bedingungen, sich ein Einfluß der Lagerungszeit fast ausschließlich nur auf die Glycyl-glycin-Spaltung geltend macht. Der Grund zu dieser Tatsache ist darin zu suchen, daß, wie es uns aus den oben in Gruppe II angeführten Versuchen nunmehr bekannt ist, der ursprüngliche Träger der Dipeptidspaltung das unlösliches Protein darstellt, indes der vornehmliche (wenn auch nicht ausschließliche) Träger der Peptonspaltung lösliches Eiweiß und höhere Eiweißabbauprodukte, die wir als Träger K bezeichnen wollen, sind. Dagegen wollen wir die niederen Abbaustufen Träger X nennen. Eine beim Lagern eintretende Autolyse wird daher, wenn keine anderweitigen Schädigungen der oben erwähnten Natur mit-

spielen, hauptsächlich die Dipeptidspaltung beeinflussen, da hier ein Trägerwechsel zugunsten jener Träger-K erfolgt, die, wie wir gleichfalls vom Filtrat des Pankreatinpräparates her wissen, die Dipeptidspaltung stark hemmen: sie sind für sie keine zymolabilen Träger. Die Peptonspaltung wird aber meist etwas gehemmt, weil eine gewisse Ansammlung der Träger X und partieller Übergang der aktiven Materie auf diese die Dislozierbarkeit durch das Substrat sicherlich etwas erschwert.

In der Gruppe VII werden wir den Erfolg der Dialyse auf diese Fermentlösungen kennen lernen und erfahren, daß die Dipeptidspaltung nur gehemmt und nicht vernichtet ist (gelinde Vorbehandlung vorausgesetzt!).

Gruppe VI (1—6). In dieser Gruppe wurde besonders der Einfluß der Abbauprodukte auf die Pepton- und Dipeptidspaltung studiert. Zum Unterschiede von den Versuchen in Gruppe V wurde hier für eine starke Ansammlung der Reaktionsprodukte gesorgt, indem eine besondere Vorverdauung eingeleitet wurde, deren Effekt durch die in Gruppe V beschriebene autolytische Natur der Vorbehandlung nicht erreicht wird.

In Serie 1 wurde die aktivierende Wirkung der Peptonverdauungsprodukte auf die Peptonspaltung und ebenso die hemmende Wirkung der Pepton- und Glycyl-glycin-Verdauungsprodukte auf die Glycyl-glycin-Spaltung, sowie der Glycyl-glycin-Verdauungsprodukte auf beide Spaltungen nachgewiesen. Auffallend ist die starke Förderung des Peptonverdauungsgemisches auf die Peptonspaltung, während das Verdauungsprodukt des Glycyl-glycins, also das Glykokoll, eine bedeutende Hemmung hervorruft. Das letztere steht auch mit den Versuchen der Gruppe V in gutem Einklange, wo allerdings die Hemmung wegen der milden Vorbehandlung viel geringer war. Die starke Stimulierung der Peptonspaltung durch das Peptonverdauungsgemisch muß offenbar dem Umstande zugeschrieben werden, daß hier ein Trägergemisch hoher Zymolabilität vorliegt. Wie die Dialysierversuche der Gruppe VII zeigen werden, ist die dialytische Reinigung von diesen Abbauprodukten mit einer Hemmung der Peptonspaltung verbunden. Das entgegengesetzte ist der Fall bei der Dipeptidspaltung: Hemmung durch die Abbauprodukte des Peptons und der Dipeptide selbst (siehe auch Versuch 2 Gruppe VI usw.), Förderung nach der dialytischen Reinigung.

Doch wissen wir aus älteren Versuchen (52, 53, 48), daß der Einfluß des Glykokolls auf die Peptonspaltung von der Konzentration des ersteren stark abhängig ist, und daß kleine Zusätze, im Gegensatz zu großen, fördernd wirken können. Darüber belehrt uns auch die Serie 3, die unter veränderten Konzentrationsverhältnissen durchgeführte Versuche enthält. Wie wir sehen, läßt sich hier eine merkbare Vergrößerung der Pepton-

spaltung in Gegenwart der Glycyl-glycin-Abbauprodukte (also des Glykokolls) feststellen.

Versuch 4 hat die Verdauung mit einem Säurefiltrat zum Gegenstand. Das Resultat ist von den früheren nicht abweichend.

Ferner ergab auch ein Versuch mit einem 3 Monate lang gelagerten Mazerat das gleiche Resultat (Serie 5).

Serie 6 endlich sagt aus, daß die angesammelten Abbauprodukte der Peptonverdauung noch nicht restlos Aminosäuren darstellen, da die Peptonverdauung durch frisches Mazerat fortdauert. Es kommen also als aktivierende Träger im Gemisch auch höhere Abbauprodukte, wenn auch nur in gewissem Umfange, in Frage.

Gruppe VII (1—7) enthält Versuche über die Dialyse von Mazeraten und ihren Einfluss auf die Spaltung von Pepton und Peptiden. Die Dialysierversuche werden jeweils in einem Dialysierapparat nach der Methode von Wegelin (Durchströmung des Wassers unter Druck durch die Lösung) und unter Anwendung von Ultrafiltern der Firma Schleicher & Schüll durchgeführt.

Diese Dialysierversuche stellen sozusagen reversible Autolyse- bzw. Verdauungsversuche vor, indem sie dazu dienen, die angesammelten autolytischen bzw. Verdauungsprodukte zu entfernen. Ihr Hauptergebnis besteht darin, daß durch diese Reversibilität die durch die Abbauprodukte geförderte Peptonspaltung in ihrer Intensität wieder verringert, indes die teilweise oder so gut wie vollständig gehemmte Dipeptidspaltung wieder erhöht wird.

Serie 1 zeigt den Einfluß einer kurzen Dialyse mit diesem Endresultat.

Freilich ist bei diesen Versuchen die Dauer der Dialyse zu berücksichtigen. Wird sie z. B. auf mehrere Tage ausgedehnt, so tritt der Einfluß der „Selbstinaktivierung“ stark in Erscheinung. Dies geht aus Serie 2 hervor, wo die Dialyse 68 Stunden lang gedauert hat.

In den vorhergehenden Versuchen wurden frische Mazerate verwendet. Unterwirft man sie der Dialyse, so werden die autolytischen Abbauprodukte, die als Fermentträger neben dem Protein bereits in Wirkung traten, wieder entfernt und die aktiven Bestandteile der Fermentsysteme durch Trägerwechsel auf das Protein zurück übertragen. Daher die beobachtete Verringerung der Aktivität auf Pepton bzw. ihre Erhöhung auf Dipeptide. (Beachten wir die Erfahrungen am Trockenpräparat!)

Wenn wir jedoch ein Mazerat lange lagern lassen und einer weitgehenden Autolyse des Eiweißes Vorschub leisten, so zeigt der Versuch (Serie 3), daß die Veränderung der Pepton- sowie der Tripeptidspaltung nach der Dialyse kaum merkbar ist, die Dipeptidspaltung dagegen auch hier gesteigert wird. Offenbar werden bei der Autolyse des Mazerates

durch ein 3%iges Ultrafilter schwer oder überhaupt nicht diffundierende Abbauprodukte akolloider bzw. semikolloider Natur gebildet (etwa hochmolekulare Albumosen), die als Hauptträger für die Peptonspaltung in Funktion treten. Teilweise an das Eiweiß zurückübertragene aktive Materie wird, wie wir nunmehr wissen, in Gegenwart zymolabilerer Träger vom Substrat nicht ausgenützt (Versuch II 1 und 2). Die Steigerung der Dipeptidspaltung dagegen kommt auch hier durch den Trägerwechsel bei der Dialyse zugunsten des Proteins zustande.

Ähnliche Deutungen gestattet Serie 4. In Serie 5 aber sehen wir den Beweis für die soeben gemachten theoretischen Erklärungen. Hier haben wir neben dem bereits bekannten Proteinträger die Träger des Filtrates, die vorwiegend hochmolekulare Abbauprodukte K darstellen. Daneben enthält das Filtrat in geringerem Maße die tiefen Abbauprodukte X. Die Dialyse hat den gleichen Effekt wie in Serie 3.

Jetzt sind wir noch den Beweis schuldig, daß bei der Dipeptidspaltung nach erfolgter Dialyse wirklich das Protein als Träger fungiert. Die kinetischen Versuche der Serie 6 zeigen die Kurve der Dipeptidspaltung vor und nach der Dialyse. Der für den Proteinträger typische geradlinige Verlauf tritt nach der Dialyse eindeutig zum Vorschein.

Serie 7 zeigt uns den Effekt, wenn ein Verdauungsgemisch, wie in den Versuchen der Gruppe VI, der Dialyse unterworfen wird. Eine Schwächung der Peptonspaltung findet auch hier statt, aber keine Regeneration der Dipeptidspaltung. Wie wir wissen, beruht erstere darauf, daß aktive Substanz durch Trägerwechsel von Abbauprodukten, die nunmehr im Dialysierprozeß entfernt wurden, auf das ursprüngliche Protein übertragen wird. Da nach 42-stündiger Verdauung das Protein abgebaut wurde, fehlt hier die Gelegenheit dazu.

Zur leichteren Orientierung diene hier die kleine Tabelle, die die Resultate der Versuche der Gruppe V—VIII verständlich macht.

Trägerwechsel bei Autolyse / bei Dialyse		Enthalten:
↓ / ↑	Protein-Träger (genuin) Pepton ± Peptid +++	im Präparat als Rückstand; im Mazerat, in kurz autolysierten Mazeraten.
↓ / ↑	Träger K (kolloid bzw. semikolloid) Pepton +++ Peptid —	im Filtrat des Präparates; im Mazerat, besonders nach längerer Autolyse; in Verdauungsgemischen.
↓ / ↑	Träger X (nichtkolloid) Pepton ++ Peptid +	im Filtrat des Präparates spärlich; im stark autolysierten Mazerat; besonders in Verdauungsgemischen.

Gruppe VIII (1—8) beschäftigt sich mit Versuchen, die eine Vorbehandlung der verschiedenen fermentativen Extrakte mit Glykokoll zum Gegenstand haben. Gleich in Serie 1 wird der Einfluß von Glykokoll in verschiedenen Mengen bei drei Temperaturen geprüft. Die Vorbehandlung

bei 5° und 25° C läßt deutliche Hemmungen gegenüber dem Nullversuch erkennen, während die bei 37° C merkliche Förderungen hervorbringt. Bei den ersten beiden Temperaturen wirkt, wie wir wissen, vorzüglich der Träger K bei der Peptonverdauung. Der Einfluß des Glykokollzusatzes ist daher gering, und zwar im Sinne einer Hemmung (vgl. die Ergebnisse der Gruppe V); erst wenn der Abbau bis zu Trägern X vorwärtsschreitet, was bei 37° der Fall ist, wirkt Glykokoll schwach schützend. Die nach Vorbehandlung bei 5° wahrnehmbare Hemmung des Glykokolls läßt sich auch bei der Glycyl-glycin-Spaltung feststellen (Serie 2). Eine weitere Bestätigung dieser Resultate liefern die Versuche der Serien 3 und 4, wo auch verschiedene Peptone zur Verwendung kamen. Stets fällt der Unterschied bei den Temperaturen von 5° und 37° ins Auge, besonders in 4, wo die fördernde Wirkung von Glykokoll bei 37° ganz erheblich ist. Diese Ergebnisse mit Pepton sind analog denjenigen der Gruppe VI, wo das Abbaugemisch nach der Peptonverdauung frisch zugesetztem Pepton zur rascheren Spaltung verhalf. Man muß annehmen, daß bei der Autolyse des Proteins, die erst bei 37° rasch abläuft, in Freiheit gesetzte aktive Substanz in Anwesenheit von Glykokoll eine stärkere Schutzwirkung erfährt, als wenn Glykokoll nicht vorhanden ist. Die erhöhte Temperatur ist für die Stabilität der Fermentwirkung nicht günstig, so daß eine Vermehrung der Träger in Gestalt des Glykokolls die Aktivität besser konserviert.

Dafür sehen wir in Serie 5, daß diese Schutzwirkung des Glykokolls in den eiweißfreien Filtraten, die sich nach der Kaolinbehandlung des Mazerates ergeben, ausfällt und überhaupt kein Einfluß zu beobachten ist. Dies steht offenbar mit der Tatsache im Zusammenhang, daß der Eiweißträger im Filtrate fehlt.

Einen deutlich hemmenden Einfluß übt dagegen das Glykokoll auf das Säurefiltrat aus. In Übereinstimmung mit den Beobachtungen in Versuchen der Gruppe V und Serie 1 der laufenden Gruppe, können wir hierbei eine hemmende Wirkung des Glykokolls auf die Träger K, die im Säurefiltrat die vorwiegende Rolle spielen, postulieren (Serie 6). Diese hemmende Wirkung kommt naturgemäß dadurch zustande, daß das Glykokoll einen Teil der Aktivität von den Trägern K disloziert, so daß also die aktive Substanz zum Teil auf einer weniger zymolabilen Trägermaterie verteilt ist.

Serie 7 und 8 enthalten Versuche mit dem Pankreatinpräparat. Wie erinnerlich (Gruppe I) übt Pepton als Substrat auf eine Pankreatinsuspension eine selektive Wirkung aus und wählt in Gegenwart des Protein- und Filtratanteiles beinahe ausschließlich den letzteren. Wie zu erwarten war, ist der Einfluß des zugesetzten Glykokolls bei Ver-

wendung der Gesamtsuspension genau der gleiche, wie bei der des Filtratanteils. Dieser Einfluß ist in beiden Fällen so gut wie Null. Offenbar enthalten sich in diesem Filtrat Träger der Qualität K, die jedoch durch das Glykokoll nicht beeinflußt werden. Ebenso übereinstimmend ist die Beeinflussung der Gesamtsuspension des Rückstandes und des Trägers [illegible] der Dipeptidspaltung, und zwar auch hier gleich Null. Wie wir wissen, kommt in beiden Fällen Protein als Träger in Betracht. Wirkt das Protein jedoch auf den isolierten Rückstand ein, so wird die Spaltung des ersteren durch Glykokollzusatz wenig, aber deutlich erhöht. Diese Erscheinung steht mit den obigen Erörterungen im Einklange, wonach das Glykokoll bei der Autolyse des Proteinträgers als Träger einspringt.

Ferner ist uns bekannt geworden, daß die Wirkung des Filtrates im frischen Zustande auf die zur Verwendung gekommenen Dipeptide fast Null beträgt, bei längerer Einwirkung jedoch allmählich in Erscheinung tritt usw., infolge des eingreifenden autolytischen Vorganges und des damit verbundenen Trägerwechsels. Bei diesem Prozeß wirkt nunmehr Glykokollzusatz deutlich hemmend. Dies läßt sich so erklären, daß das Glykokoll mit zymolabilen Trägern in Konkurrenz tritt.

* * *

Aus den beschriebenen Versuchen erhellt sich die Bedeutung der jeweiligen Träger der aktiven Materie für den gesamten Charakter des Fermentsystems. Sowohl die kinetischen Kurven, als auch der Einfluß der Reaktion des Milieus, diverser Zusätze, der Temperatureffekte u. dgl. m. hängen von der Natur der aktuellen Träger ab, die je nach der Herstellungsmethode, dem Alter, dem autolytischen Zustand usw. der Fermentlösungen variieren. Daß der Einfluß des Substrates unter diesen Verhältnissen gleichfalls von großer Bedeutung ist, versteht sich von selbst. Kommt es doch im wesentlichen auf das Dislokationsvermögen des Substrates an, das es zur Übernahme der aktiven Substanz von den jeweiligen Trägern ausrüstet. Auf die Bedeutung physiko-chemischer Einflüsse auf beide Teile wurde bereits hingewiesen. Als eine besondere Frage ergibt sich hier der Einfluß der chemischen Struktur des Substrates verschiedenen Trägern gegenüber für den Fall, daß, wie es für Peptide zutrifft, strukturelle Unterschiede sich durch die Variation und Aneinanderkettung von einfachen Bausteinen ergeben. Auf die Ausführungen verschiedener Forscher bezüglich der Existenz von Dipeptidasen bzw. höheren Peptidasen wurde bereits im historischen Teil hingewiesen. Das Problem mußte noch als ein offenes hingestellt werden.

Unsere Versuche ergaben in mancher Beziehung so wesentliche Unterschiede zwischen dem Charakter der Pepton- und Tripeptidspaltung einerseits und jenem der Dipeptidspaltung andererseits, daß man auf den

ersten Blick zur Annahme unterschiedlicher Fermente allen Grund hätte. Auch wurde in der von A. Fodor längst beschriebenen Methode der Säurefällung von Mazeraten der Pankreasdrüsen ein Weg gefunden, um den Dipeptide spaltenden Anteil von dem Peptone spaltenden zu trennen. Die gleiche Trennung gestattet ein Pankreatinpräparat durch einfache Filtration und Auswaschung. Denn wiewohl der Rückstand der Säure koagulation bzw. jener des Präparates nicht nur Dipeptide, sondern auch Pepton spaltet, so muß man doch ausdrücklich betonen, daß Peptone Dipeptidkomplexe enthalten. Dafür sprechen einerseits die niedrigen Molekulargewichte der untersuchten Peptone und ferner demnächst mitzuteilende Ergebnisse über das Gelatinepepton, in welchem Dipeptidkomplexe unbedingt vorliegen. Hingewiesen sei nochmals auf die Befunde von A. Fodor und R. Schönfeld über die Symbasie der Pepton- und Dipeptidspaltung bzw. ihrer Änderungen bei der Verwendung von Glykokolleluaten der Hefeadsorbate.

Das abweichende Verhalten des von uns untersuchten Tripeptides, das sich durch die genannten unlöslichen Proteinrückstände nur äußerst schwach spalten läßt, spricht gleichfalls für die Auffassung, daß im Pepton Dipeptidkomplexe als Substrat fungieren.

Dennoch möchten wir die Existenz einer gesonderten Dipeptidase unsererseits nicht ohne weiteres annehmen. Der Grund dazu ist folgender: Zunächst haben wir die große Abhängigkeit der Intensität in der Fermentwirkung von der Natur der beteiligten Träger kennengelernt. Dieser Einfluß auf den Grad der Fermentwirkung kann, wie wir gleichfalls sahen, unter Umständen dazu führen, daß diese geradezu auf Null herabsinkt. Wir denken hier an die Ausschaltung der Wirkung auf Dipeptide bei Ansammlung der Verdauungsprodukte, indes diese letzteren in der gleichen Konzentration die Peptonspaltung bedeutend stimulieren. Ferner wird die Wirkung des unlöslichen Anteils im Pankreatinpräparat auf Pepton in Gegenwart des löslichen Anteils fast vollständig unterdrückt. Das Vermögen des gleichen Substrates, die aktive Substanz aus seiner Bindung mit dem Träger an sich zu reißen, zu dislozieren, hängt somit noch von anderen Stoffen ab und kann, je nach den Bedingungen und der Natur dieser Stoffe, gesteigert oder verringert sein. Um wieviel eher gelten diese Betrachtungen für eine Vielheit von Substraten. Es muß also garnicht mit mehreren Arten von aktiver Materie gerechnet werden, es genügt, um Unterschiedlichkeiten zwischen den verschiedenen Substraten hervorzubringen, wenn Differenzen in der Natur der beteiligten Träger bestehen. Für diese Auffassung besitzen wir ferner direkte Beweise. Man betrachte die Tabelle 1 und 4 in Gruppe II. Der 2-Stunden-Wert der Glycylglycin-Spaltung durch den löslichen Anteil eines Pankreatinpräparates

entspricht 0,15 ccm $^n/_{10}$-NaOH, der 23-Stunden-Wert etwa 1,30. Wie besondere Versuche erwiesen haben, ist die Kurve keine lineare, sondern eine typisch autokatalytische[1]). Sie erweckt den Anschein, als würde eine anfängliche Hemmung allmählich beseitigt werden. In Wirklichkeit treten infolge Autolyse neue Träger auf, die gegenüber dem untersuchten Dipeptid zymolabiler sind und eine Aktivierung nach sich ziehen.

Bemerkt sei noch folgendes: Der neueste Befund von Waldschmidt-Leitz und Purr (12), wonach mit Hilfe von Eisenhydroxyd bei $p_H = 4$ die Dipeptidase sich von der höheren Peptidase trennen läßt, beruht offenbar auf der Adsorption des sauren Phosphorproteins durch das basische Adsorbens, somit desjenigen Stoffes, der nach unseren Befunden den Träger der Dipeptidspaltung darstellt. Diese Trennung läßt sich nach unseren Methoden (Säurefällung des Mazerates bei $p_H = 4$ bis 5 bzw. Filtration des Trockenpräparates) viel leichter erreichen. Auch hier handelt es sich nicht um Isolierung eines „Enzymmoleküls", sondern um die eines besonderen Trägers, dessen Natur die scheinbare Spezifität bedingt.

Zusammenfassung der Versuchsergebnisse.

Es wurde die fermentative Spaltung von verschiedenen Peptonarten, Dipeptiden und eines Tripeptides durch verschieden behandelte Mazerate, ferner durch ein Trockenpräparat von Pankreasdrüsen unter differenten Bedingungen vergleichend untersucht, mit dem Ziele, die dabei beteiligten Fermentträger festzustellen.

Versuche, das System der Dipeptidspaltung von jenem der Spaltung höherer Peptide, sowie von Peptonen zu unterscheiden, ließen sich einerseits durch die Methode der Säurekoagulation nach A. Fodor und andererseits durch die Trennung des Trockenpräparates in einen unlöslichen und einen löslichen Anteil durchführen. Das Säurekoagulum bzw. der unlösliche Anteil des Präparates erweisen sich als Fermentträger bei der Spaltung von Dipeptiden, sowie vom Dipeptidkomplex des Peptons. Das Filtrat des Säurekoagulums bzw. der lösliche Anteil des Präparates waren spontan ausschließlich auf das Tripeptid sowie auf Peptone wirksam.

Bei der Autolyse dieses löslichen Anteils wird die Dipeptidspaltung nachträglich, scheinbar autokatalytisch, hervorgerufen.

Kinetische Messungen haben erwiesen, daß frische Mazerate bei der Peptonspaltung einen linearen Verlauf ergeben, gelagerte Mazerate und Säurefiltrate dagegen einen parabolischen. Dies wird mit der differenten Natur der beteiligten Träger in Zusammenhang gebracht.

Das optimale p_H der Peptonspaltung liegt für den löslichen Anteil des Pankreatinpräparates bei 7,58 im Mittel. Jenes der Dipeptidspaltung

[1]) Wird demnächst veröffentlicht.

durch den unlöslichen Anteil des Präparates bei 7,96 und jenes der Peptonspaltung durch den gleichen Anteil bei 8,00.

Die Lagerung von Mazeraten ergibt autolytische Abbauprodukte, die sich auch bei der Substratverdauung anhäufen. Sie entfalten unter geeigneten Verhältnissen auf die Peptonspaltung eine bedeutende Förderung, indes sie die Dipeptidspaltung stets hemmen. Die Dialyse kehrt dieses Verhältnis um, indem sie infolge Entfernung der löslichen Stoffe eine Hemmung der Peptonspaltung bzw. eine Steigerung der Dipeptidspaltung hervorruft.

Vorbehandlung mit Glykokoll beeinflußt sowohl die Pepton- als auch die Dipeptidspaltung je nach dem Fermentmilieu, der Temperatur und der Menge in verschiedenem Maße.

Es wird der Versuch gemacht, die Vielheit von Erscheinungen durch die Annahme verschiedener Fermentträger bzw. des Trägerwechsels einheitlich zu deuten. Trotz der Differenzierbarkeit der Spaltung von Dipeptiden und höheren Peptiden bzw. Peptonen wird die Auffassung, daß spezifische Fermente für beide Wirkungen zu Recht bestehen, aus theoretischen Erwägungen abgelehnt.

IV. Tabellen.

Vorbemerkungen zu den Tabellen.

In den folgenden Tabellen ist zu lesen:
Substrat: immer neutral gegen Lackmus, Prozentsatz ungefähr.
Differenz, wenn keine besondere Angaben gemacht werden — Differenz korrigiert durch Null-Versuchswert.
Alter des Mazerates — Zeit der Aufbewahrung im Eisschrank bis zur Inangriffnahme der Versuche.
„Eiweißfrei" — negative Eßbach- und Spieglerreaktion.
Wenn angegeben „korrigiert", so bedeutet das auf Grund des Null-Versuches.

I. Pepton bzw. Glycyl-glycin-Spaltung durch Mazerate, eiweißfreie Filtrate und Pankreatinpräparat.

1. Pankreasmazerat und verschiedene Peptonarten.

Fermentlösung: Mazerat neutral gegen Lackmus.
Substrate: a) Pepton Witte 5%
b) Seidenpepton Riedel 5%
c) Gelatinepepton 5%
d) Seidenpepton Roche 5%
e) Caseinpepton 5%
Puffer: Na_2HPO_4 $^m/_{15}$.

Vers. Temp. 37°	Versuch 1	Versuch 2	Versuch 3	Versuch 4	Versuch 5
Zusammensetzung der Mischung	Je 15 ccm Ferment + 10 ccm Pufferlösung + 10 ccm Substrat				
	a	b	c	d	e
Zeit in h	Je 10 ccm titriert verbrauchen an $^n/_{10}$-NaOH				
0	5,60	5,40	5,20	6,35	7,40
2	8,20	8,05	6,30	7,30	8,00
Differenz	2,60	2,65	1,10	0,95	0,60

2. Witte-Pepton und Mazerat in verschiedenen Konzentrationen.

Fermentlösung: Mazerat 18 Tage alt in verschiedenen Verdünnungen.
Substrat: Pepton Witte 5%.

37°	1	2	3	4
Zusammensetzung der Mischung	5 ccm Ferment 15 „ H_2O	10 ccm 10 „	15 ccm 5 „	20 ccm 0 „
	+ je 10 ccm Substrat			
Zeit in h	Je 10 ccm titriert verbrauchen an $^n/_{10}$-NaOH			
0	4,10	6,20	8,30	10,30
2	6,40	9,00	11,10	13,40
Differenz 2—0	2,30	2,80	2,80	3,10
3	6,80	9,50	11,75	13,85
Differenz 3—0	2,70	3,30	3,45	3,55

3. Vergleich der Peptonspaltung bei gelagertem Mazerat ohne und mit Temperaturvorbehandlung bzw. vor und nach der Kaolinbehandlung.

Fermentlösung: a) Mazerat 19 Tage alt (bei p_H 6,3—6,7).
b) Mazerat (a) 20 Std. bei 37° stehen gelassen.
c) „Eiweißfreies" Filtrat dargestellt aus Fermentlösung (b) durch Kaolinadsorption (200 ccm mit 20 g 15 Minuten geschüttelt).
Substrat: Pepton Witte 5%.

37°	1	2	3
Zusammensetzung der Mischung	Je 20 ccm Fermentlösung a	b	c
	+ je 10 ccm Substrat		
Zeit in h	Je 10 ccm titriert verbrauchen an $^n/_{10}$-NaOH		
0	10,30	10,35	10,00
2	13,40	12,40	10,60
Differenz 2—0	3,10	2,05	0,60

4. Zeitbeständigkeit der Pepton- bzw. Glycin-glycin-Spaltung eines Mazerates bei verschiedenen p_H-Werten.

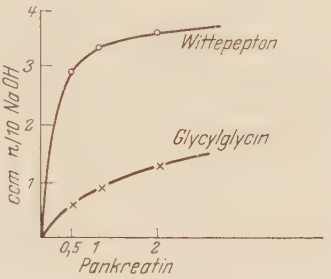
Fermentlösung: Mazerat 2½ Monate alt (die verschiedenen p_H durch Alkali- und Säurezusatz erreicht).
Substrate: a) Pepton Witte 5%.
b) Glycyl-glycin 2%.

37°	1		2		3	
Zusammensetzung der Mischung	$p_H = 3,9$		$p_H = 6,7$		$p_H = 8,7$	
	Je 15 ccm Ferment + 10 ccm Substrat					
	a	b	a	b	a	b
Zeit in h	Je 10 ccm titriert verbrauchen an $^n/_{10}$-NaOH					
0	6,80	8,85	7,15	9,25	7,30	9,50
3	7,70	8,85	8,80	9,50	8,15	9,50
Differenz	0,90	0,00	1,65	0,25	0,85	0,00

5. Pankreatinpräparat in verschiedenen Mengen und Witte-Pepton bzw. Glycyl-glycin.

Fermentlösung: a) Pankreatinsuspension Parke, Davis u. Co. 2% (Vers. 1—3); b) Pankreatinsuspension (a) 1% (Vers. 4—6); c) Pankreatinsuspension 0,5% (Vers. 7—9).
Substrate: a) Pepton Witte 5%; b) Glycyl-glycin 2%; c) H_2O.

37°	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Zusammensetzung der Mischung	Je 15 ccm Ferment								
	a	b	c	a	b	c	a	b	c
	+ 10 ccm Substrat a			+ 10 ccm Substrat b			+ 10 ccm Substrat c		
Zeit in h	Je 10 ccm titriert verbrauchen an $^n/_{10}$ NaOH								
0	4,10	3,30	2,90	6,00	5,40	5,15	1,20	0 50	0,10
2	8,20	7,00	6,05	7,80	6,65	5,90	1,70	0,80	0,30
Differenz 2—0	4,10	3,70	3,15	1,80	1,25	0,75	0,50	0,30	0,20
Korrigiert	3,60	3,40	2,95	1,30	0,95	0,55			



Kurve 1.

II. Versuch einer Trennung der peptonspaltenden von der dipeptidspaltenden Wirkung.

1. Versuch der Trennung des peptonspaltenden vom dipeptidspaltenden Fermentsystem im Pankreatinpräparat.

Fermentlösung: a) 1%ige Suspension von Pankreatin (Parke, Davis & Co., London) in 0,9% NaCl; b) Filtrat von a); c) Unlöslicher Rückstand von (a), gewaschen und in 35 ccm H_2O suspendiert.
Substrate: a) Pepton Witte 5%; b) Glycyl-glycin 2%; c) H_2O.

37°	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Zusammensetzung der Mischung	Je 15 ccm Ferment								
	a	b	c	a	b	c	a	b	c
	+ 10 ccm Substrat a			+ 10 ccm Substrat b			+ 10 ccm Substrat c		
Zeit in h	Je 10 ccm titriert verbrauchen an $^n/_{10}$-NaOH								
0	3,20	2,95	3,25	6.30	6,15	8,25	0,70	0,60	0,10
2	6,50	6,20	4,55	7,60	6,50	10,00	1,05	0,80	0,10
Differenz 2—0	3,30	3,25	1,30	1,30	0,35	1,75	0,35	0,20	0,00
Korrigiert	2,95	3 05	4,30	0,95	0,15	1,75			

2. Wiederholung.

Fermentlösung: a) 1%ige Suspension von Pankreatin neutral gegen Lackmus.
b) Filtrat von (a).
c) Unlöslicher Rückstand von (a) in 35 ccm H_2O suspendiert.
Substrate: a) Pepton Witte 5%.
b) Glycyl-glycin 2%.
c) H_2O.

37°	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Zusammensetzung der Mischung	Je 15 ccm Ferment								
	a + 10 ccm Substrat a			b + 10 ccm Substrat b			c + 10 ccm Substrat c		
Zeit in h	Je 10 ccm titriert verbrauchten an $^n/_{10}$-NaOH								
0	3,10	3,00	3,70	6,15	6,00	8,40	0,70	0,50	0,10
2	6,30	6,00	6,10	7,45	6,30	10,70	0,85	0,60	0,25
Differenz 2—0	3,20	3,00	2,40	1,30	0,30	2,30	0,15	0,10	0,15
Korrigiert	3,05	2,90	2,25	1,15	0,20	2,15			

3. Wiederholung.

A. Fermentlösung: a) 1%ige Pankreatinsuspension in H_2O.
b) Filtrat (100 ccm 1%ige Pankreatinsuspension durch ein Faltenfilter filtriert) klar, Eßbach negativ.
c) Rückstand der Filtration nach dem Auswaschen in 100 ccm H_2O suspendiert.
Substrate: a) Pepton Witte 5%.
b) Glycyl-glycin $^m/_{10}$.
c) Glycyl-l-leucin $^m/_{10}$.
d) H_2O.

B. Ferment: Filtrat (100 ccm 1%ige Pankreatinsuspension.
Substrate: wie bei A. (durch den Faltenfilter filtriert) klar, mit Eßbach negativ.

C. Ferment: Rückstand der Filtration nach dem Auswaschen in 100 ccm H_2O suspendiert.
Substrate: wie bei A.

A 37°	1	2	3	4
Zusammensetzung der Mischung	Je 15 ccm Ferment a + 10 ccm Substrat			
	a	b	c	d
Zeit in h	Je 10 ccm titriert verbrauchen an $^n/_{10}$-NaOH			
0	3,10	4,55	4,20	0,80
2	6,20	5,25	5,70	1,00
Differenz 2—0	3,10	0,70	1,50	0,20
Korrigiert	2,90	0,50	1,30	

B 37°	1	2	3	4
Zusammensetzung der Mischung	Je 15 ccm Ferment b + 10 ccm Substrat			
	a	b	c	d
Zeit in h	Je 10 ccm titriert verbrauchen an $^n/_{10}$-NaOH			
0	2,95	4,40	4,10	0,60
2	5,85	4,65	4,45	0,75
Differenz 2—0	2,90	0,25	0,35	0,15
Korrigiert	2,75	0,10	0,20	

C 37°	1	2	3	4
Zusammensetzung der Mischung	Je 15 ccm Ferment c + 10 ccm Substrat			
	a	b	c	d
Zeit in h	Je 10 ccm titriert verbrauchen an $^n/_{10}$-NaOH			
0	2,25	3,80	3,45	0,10
2	3,25	4,10	4,35	0,10
Differenz 2—0	1,00	0,30	0,90	0,00
Korrigiert	1,00	0,30	0,90	

4. Endwerte der Spaltungen verschiedener Peptone und Polypeptide bei Verwendung vom wasserlöslichen und unlöslichen Anteil des Pankreatinpräparates.

Fermentlösung: a) Wasserlöslicher Anteil (1%ige Pankreatinlösung neutral gegen Lackmus).
b) Unlöslicher Rückstand (ausgewaschen und auf die ursprüngliche Konzentration gebracht).

Substrate: a) Pepton Witte 5%.
b) Pepton Riedel 5%.
c) Casein-Pepton 5%.
d) d,l-Leucyl-glycyl-glycin 2%.
e) Glycyl-glycin 2%.
f) H_2O.

37°	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Zusammensetzung der Mischung	25 ccm Ferment a + 20 ccm Substrat						25 ccm Ferment b + 20 ccm Substrat					
	a	b	c	d	e	f	a	b	c	d	e	f
Zeit in h	Je 10 ccm titriert verbrauchen an $^n/_{10}$-NaOH											
0	3,00	3,35	8,00	2,10	4.30	0,55	2,30	2,75	7,60	1,65	3,70	0,05
23	8,50	7,40	9,40	3,00	5,90	0,85	6,10	4,80	8,10	1,90	7,60	0,15
Differenz 23—0	5,50	4,05	1,40	0,90	1,60	0,30	3,80	2,05	0,50	0,25	3,90	0,10
46	9,30	8,20	10,00	3,50	6,90	0 90	6,85	5,60	8,30	2,10	7,70	0,15
48	9,30	8,20	10,00	3,50	6,90	0,90	6,85	5,60	8,30	2,10	7,70	0,15
Kifferenz 48—0	6,30	4,85	2,00	1,40	2,60	0,35	4,55	2,85	0,70	0,45	4,00	0,10
Korrig. Endwerte	5,95	4,50	1,65	1,05	2,25		4,45	2,75	0,60	0,35	3,90	

5. Spaltungsversuch von *α*-d-Bromisocapronyl-pentaglycyl-glycin durch die beiden Anteile des Pankreatinpräparates.

Fermentlösung: a) Rückstandsuspension aus Pankreatin.
b) Wasserlöslicher Anteil.

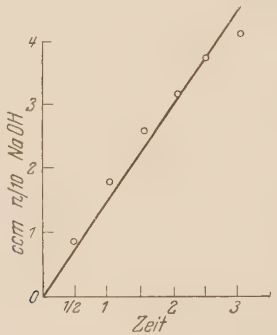
Substrat: a) *α*-d-Bromisocapronyl-pentaglycyl-glycin 0,4%.
b) H_2O.

37°	1	2	3	4
Zusammensetzung der Mischung	25 ccm Ferment a + 20 ccm Substrat		25 ccm Ferment b + 20 ccm Substrat	
	a	b	a	b
Zeit in h	20 ccm titriert verbrauchen an $^n/_{10}$-NaOH			
0	0,25	0,10	1,15	1,05
19	0,35	0,20	1,60	1,50
Differenz 19—0	0,10	0,10	0,45	0,45
Korrigiert	0,00		0,00	

III. Kinetische Versuche.

1. Kinetik der Peptonspaltung durch frisches Mazerat bei $p_H = 7$ (25°).
Fermentlösung: Mazerat 1 Tag alt.
Substrate: a) Pepton Witte 5%; b) H_2O.

25°	Versuch	Nullversuch	Korrigiert
Zusammensetzung der Mischung	80 ccm Ferment + 80 ccm Substrat + 80 ccm H_2O		
Zeit in h	je 15 ccm titriert verbrauchen an $^n/_{10}$-NaOH		
0	7,80	3,30	
½	9,00	3,60	
Differenz ½—0	1,20	0,30	0,90
1	10,20	3,80	
Differenz 1—0	2,40	0,50	1,90
1½	11,05	4,00	
Differenz 1½—0	3,25	0,70	2,55
2	11,80	4,10	
Differenz 2—0	4,00	0,80	3,20
2½	12,50	4,20	
Differenz 2½—0	4,70	0,90	3,80
3	13,00	4,35	
Differenz 3—0	5,20	1,05	4,15
24	13,45	5,70	
Differenz 24—0	5,65	2,40	3,25



Kurve 2.

2. Kinetik der Peptonspaltung durch ein gelagertes Mazerat bei $p_H = 7$ (25°).
Fermentlösung: Mazerat 7 Tage alt.
Substrate: a) Pepton Witte 5%; b) H_2O.

25°	Versuch	Nullversuch
Zusammensetzung der Mischung	80 ccm Ferment + 80 ccm Substrat	80 ccm Ferment + 80 ccm H_2O
Zeit in h	15 ccm titriert verbrauchen an $^n/_{10}$-NaOH	
0	12,75	7,15
½	15,60	7,15
Differenz ½—0	2,85	0,00
1	16,75	7,15
Differenz 1—0	4,00	0,00
1½	17,45	7,15

Versuch III, 2 (Fortsetzung).

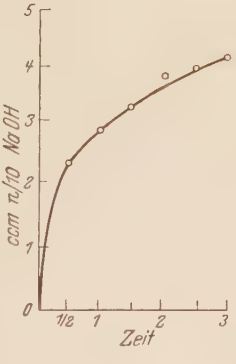
Zeit in h	15 ccm titriert verbrauchen an $^n/_{10}$-NaOH	
	4,70	0,00
Differenz $1^1/_2$—0		
2	17,75	7,15
Differenz 2—0	5,00	0,00
$2^1/_2$	18,05	7,15
Differenz $2^1{}_2$—0	5,30	0,00
3	18,25	7,15
Differenz 3—0	5,50	0,00
24	23,50	7,90
Differenz 24—0	10,75	0,75
Korrigiert	10,00	

Kurve 3.

3. Kinetik der Peptonspaltung durch das Säurefiltrat eines Mazerates bei $p_H = 7$ (25°).

Fermentlösung: Säurefiltrat (Darstellung oben). Substr.: a) Pepton Witte 5%; b) H_2O.

25°	Versuch	Nullversuch
Zusammensetzung der Mischung	80 ccm Ferment + 80 ccm Substrat	+ 80 ccm H_2O
Zeit in h	Je 15 ccm titriert verbrauchen an $^n/_{10}$-NaOH	
0	10.70	6,10
$^1/_2$	13,00	6,10
Differenz $^1/_2$—0	2.30	
1	13,60	6,10
Differenz 1—0	2,90	
$1^1/_2$	14,10	6,10
Differenz $1^1/_2$—0	3,40	
2	14,50	6,10
Differenz 2—0	3,80	
$2^1/_2$	14,70	6,10
Differenz $2^1/_2$—0	4.00	
3	14,90	6,10
Differenz 3—0	4,20	
24	17,60	6,10
Differenz 24—0	6,90	0,00



Kurve 4.

IV. Messungen optimaler (H)-Konzentration.

1. Optimale (H)-Konzentration der Peptonspaltung durch Mazerate.

Fermentlösungen: Mazerat 7 Tage alt von verschiedener (H)-Konzentration, erzielt durch Zusatz von $^n/_1$-HCl, $^n/_1$-NaOH und entsprechende Phosphatpuffermischungen. Substrat: Pepton Witte 5%.

25°	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Zusammensetzung der Mischung	Je 20 ccm Ferment + 40 ccm Puffermischung + 20 ccm Substrat								
	$p_H = 6,5$	7,0	7,2	7,4	7,5	7,7	8,1	8,3	8,8
Zeit in h	Je 5 ccm titriert verbrauchen an $^n/_{20}$-NaOH nach Sörensen								
0	6,30	4,80	4,35	3,90	3,85	3,20	2,65	2,25	1,70
½	7,10	5,70	5,30	4,85	4,70	4,15	3,65	3,25	2,70
Differenz ½—0	0,80	0,90	0,95	0,95	0,85	0,95	1,00	1,00	1,00
1	7,35	6,05	5,65	5,20	5,10	4,55	4,00	3,65	3,00
Differenz 1—0	1,05	1,25	1,30	1,30	1,25	1,35	1,35	1,40	1,30
1½	7,55	6,35	5,95	5,45	5,30	4,75	4,25	3,80	3,25
Differenz 1½—0	1,25	1,55	1,60	1,55	1,45	1,55	1,60	1,55	1,55
2	7,70	6,50	6,10	5,60	5,50	4,90	4,35	4,00	3,45
Differenz 2—0	1,40	1,70	1,75	1,70	1,65	1,70	1,70	1,75	1,75
24	9,85	8,45	8,15	7,70	7,60	6,40	5,85	5,50	4,75
Differenz 24—0	3,55	3,65	3,80	3,80	3,75	3,20	3,20	3,25	3,05

2. Optimale (H)-Konzentration der Peptonspaltung durch Pankreatinpräparat (Filtrat).

Fermentlösung: Filtrat der Pankreatinsuspension (Parke, Davis & Co.) 1% bei verschiedenem p_H. Substrat: Pepton Witte 5%.

25°	1	2	3	4	5	6
Zusammensetzung der Mischung	$p_H = 7,10$	7,47	7,73	7,84	7,85	8,17
	Je 20 ccm Ferment + je 10 ccm Substrat					
+ ccm $^n/_{10}$-NaOH	0,00	1,00	2,00	2,50	3,00	4,00
+ „ H_2O	4,00	3,00	2,00	1,50	1,00	0,00
Zeit in h	Je 5 ccm titriert verbrauchen an $^n/_{20}$-NaOH					
0	2,45	2,10	1,80	1,65	1,55	1,40
20	6,00	5,90	5,65	5,35	5,15	4,85
Differenz 20—0	3,55	3,80	3,85	3,70	3,60	3,45

3. Optimale (H)-Konzentration der Dipeptidspaltung durch Pankreatinpräparat.

Fermentlösung: 1%ige Pankreatinsuspension (Parke, Davis & Co.) bei verschiedenem p_H. Substrat: Glycyl-glycin $^m/_5$.

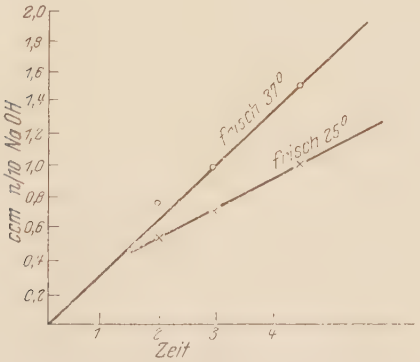
25°	1	2	3	4
Zusammensetzung der Mischung	$p_H = 7,52$	7,96	8,01	8,06
	Je 20 ccm Ferment + je 10 ccm Substrat			
+ ccm $^n/_{10}$-NaOH	0,00	1,00	2,00	3,00
+ „ H_2O	3,00	2,00	1,00	0,00
Zeit in h	Je 15 ccm titriert verbrauchen an $^n/_{20}$-NaOH			
0	6,45	6,10	5,75	5,50
20	11,10	10,85	9,90	8,95
Differenz 20—0	4,65	4,75	4,15	3,45

V. Haltbarkeit bei der Lagerung unter variierten Bedingungen.

1. Einfluß der Lagerung auf das Spaltvermögen eines Mazerates für Pepton bei verschiedenen Versuchstemperaturen.

Fermentlösung: Mazerat 1 Tag alt.
Substrate: a) Pepton Roche 2,5%;
b) H_2O.

		Vers. Temp. 37°		Vers. Temp. 25°	
		1	2	3	4
Vorbehandlung des Mazerates	Zusammensetzung der Mischung	Je 20 ccm Ferment +			
		10 ccm Substr.	10 ccm H_2O	10 ccm Substr.	10 ccm H_2O
	Zeit in h	Je 10 ccm titriert verbrauchen an $^n/_{10}$-NaOH			
Frisch verwendet	0	7,00	3,80	7,00	3,80
	2	8,65	4,70	8,00	4,25
	Differenz 2—0	1,65	0,90	1,00	0,45
	3	9,20	5,00	8,20	4,30
	Differenz 3—0	2,20	1,20	1,20	0,50
	4½	9,90	5,20	8,90	4,70
	Differenz 4½—0	2,90	1,40	1,90	0,90
	Korrigiert	1,50		1,00	
24 Std. bei 5° und darauf 24 Std. bei 25° stehen gelassen	0	10,50	7,80		
	2	11,50	7,80		
	Differenz 2—0	1,00	0,00		
	3	11,65	7,80		
	Differenz 3—0	1,15	0,00		
	4½	12,20	7,90		
	Differenz 4½—0	1,70	0,10		
	Korrigiert	1,60			



Kurve 5.

2. Einfluß des Lagerns von Mazeraten auf das Spaltvermögen für Pepton und Dipeptid.

Fermentlösung: a) Mazerat ganz frisch; b) Mazerat 6 Tage bei 5° stehengelassen.
Substrate: a) Pepton Witte 5%; b) Glycyl-glycin $^{m}/_{10}$; c) H_2O.

37°	1	2	3	4	5	6
Zusammensetzung der Mischung	15 ccm Ferment a + 10 ccm Substrat			15 ccm Ferment b + 10 ccm Substrat		
	a	b	c	a	b	c
Zeit in h	Je 10 ccm titriert verbrauchen an $^{n}/_{10}$-NaOH					
0	3,20	4,80	1,00	4,80	6,60	2,55
2	7,30	6,20	1,60	8,20	6,75	2,70
Differenz 2—0	4,10	1,40	0,60	3,40	0,15	0,15
Korrigiert	3,50	0,80		3,25	0,00	

3. Einfluß verschiedener (H)-Konzentrationen und Temperaturen beim Lagern von Mazeraten auf das Spaltvermögen für Pepton u. Dipeptiden.

Fermentlösung: a) Mazerat 40 Stunden bei 25° stehengelassen (p_H = 6,3 bzw. 8,7).
b) Wie (a) nur bei 5° vorbehandelt. Zum Versuch neutralisiert.
Substrate: a) Pepton Witte 5%; b) Glycyl-glycin 2%; c) d,l-Leucyl-glycin 2%.

Vorbehandlung	25°			5°			25°			5°		
Vers. Temp. 37°	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Spaltung: Zusammensetzung der Mischung	15 ccm Ferment a vorbehandelt bei p_H = 6,3 + 10 ccm Substrat			15 ccm Ferment b vorbehandelt bei p_H = 6,3 + 10 ccm Substrat			15 ccm Ferment a vorbehandelt bei p_H = 8,7 + 10 ccm Substrat			15 ccm Ferment b vorbehandelt bei p_H = 8,7 + 10 ccm Substrat		
	a	b	c	a	b	c	a	b	c	a	b	c
Zeit in h	Je 10 ccm titriert verbrauchen an $^{n}/_{10}$-NaOH nach Sörensen											
0	4,80	6,90	5,90	4,80	6,50	5,50	4,60	6,80	5,80	4,65	6,80	5,70
3	8,30	8,20	7,35	8,55	7,80	7,30	5,80	6,80	5,80	7,40	6,80	5,70
Differenz 3—0	3,50	1,30	1,45	3,75	1,30	1,80	1,20	0,00	0,00	2,75	0,00	0,00

4. Einfluß verschiedener Zeiten und Temperaturen beim Lagern von Mazerat auf das Spaltvermögen.

Fermentlösung: a) Mazerat 8 Tage alt bei 20° vorbehandelt.
b) Mazerat 8 Tage alt bei 5° vorbehandelt. [b) Nullversuch].
Substrate: a) Pepton Witte 5%; b) Glycyl-glycin 2%.

Vorbehandlung	5°						20°					
Vers. Temp. 37°	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Spaltung: Zusammensetzung der Mischung	Je 15 ccm Ferment a + 10 ccm Substrat						Je 15 ccm Ferment b + 10 ccm Substrat					
	5 Tage vorbehandelt		7 Tage vorbehandelt		21 Tage vorbehandelt		5 Tage vorbehandelt		7 Tage vorbehandelt		21 Tage vorbehandelt	
	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b
Zeit in h	Je 10 ccm titriert verbrauchen an $^{n}/_{10}$-NaOH nach Sörensen											
0	7,05	9,95	7,60	9,35	8,00	9,75	7,50	10,35	8,05	9,90	8,15	9,95
3	11,40	10,70	11,60	10,20	11,70	10,15	11,50	10,90	11,55	10,25	10,75	10,15
Differenz 3—0	4,35	0,75	4,00	0,85	3,70	0,40	4,00	0,55	3,50	0,35	2,60	0,20

5. Zeitabhängigkeit des Einflusses der Temperaturvorbehandlung auf das Spaltvermögen von lange gelagerten Mazeraten.

Fermentlösung: Mazerat 2 Monate alt, wird bei verschiedenen Temperaturen vorbehandelt.
Substrat: a) Pepton Witte 5%; b) Glycyl-glycin 2%.

Temperatur und Zeit der Vorbehandlung	Vers. Temp. 37°	1	2
	Zusammensetzung der Mischung	Je 15 ccm Ferment + 10 ccm Substrat a	b
	Zeit in h	Je 10 ccm titriert verbrauchen an $^n/_{10}$-NaOH	
Frisch verwendet	0	7,15	9,00
	3	10,50	9,35
	Differenz 3—0	3,35	0,35
20 Stunden bei 37°	0	7,20	9,10
	3	8,90	9,30
	Differenz 3—0	1,70	0,20
40 Stunden bei 37°	0	7,25	9,45
	3	8,50	9,70
	Differenz 3—0	1,25	0,25
Nach weiteren 7 Tagen bei 5°	0	7,30	9,25
	3	8,55	9,50
	Differenz 3—0	1,25	0,25

6. Einfluß der Vorbehandlung bei verschiedenen Zeiten und Temperaturen auf das Spaltvermögen eines Mazerates für Pepton.

Fermentlösung: Mazerat 2 Tage alt.
Substrate: a) Pepton Roche $2^1/_2$%; b) H_2O.

		1	2	3	4
Vers. Temp. 37°		24 Stunden vorbehandelt		48 Stunden vorbehandelt	
Temperatur der Vorbehandlung	Zusammensetzung der Mischung	Je 10 ccm Ferment + 15 ccm Substr.	15 ccm H_2O	15 ccm Substr.	15 ccm H_2O
	Zeit in h	Je 10 ccm titriert verbrauchen an $^n/_{10}$-NaOH			
5°	0	8,75	5,90	9,05	5,85
	2	10,00	5,90	10,50	6,00
	Differenz 2—0		0,00	1,45	0,15
	Korrigiert	1,25		1,30	
25°	0	8,80	5,95	9,20	5,95
	2	10,10	5,95	10,60	5,95
	Differenz 2—0		0,00		0,00
	Korrigiert	1,30		1,40	
37°	0	9,15	6,20	9,55	6,30
	2	10,15	6,20	10,35	6,30
	Differenz 2—0		0,00		0,00
	Korrigiert	1,00		0,80	

7. Einfluß der Vorbehandlungs-Temperatur auf das Spaltvermögen eines mit Kaolin behandelten Mazerates bei neutraler Reaktion.

Fermentlösung: „Eiweißfreies“ Filtrat bei verschiedenen Temperaturen 20 Stunden vorbehandelt.
Substrat: Pepton Witte 5%.

Temperatur der Vorbehandlung	Vers. Temp. 37°	
	Zusammensetzung der Mischung	15 ccm Ferment + 10 ccm Substrat
	Zeit in h	10 ccm titriert verbrauchen an $^n/_{10}$-NaOH
5°	0	7,55
	3	8,55
	Differenz 3—0	1,00
25°	0	7,55
	3	8,55
	Differenz 3—0	1,00
37°	0	7,45
	3	8,40
	Differenz 3—0	0,95

8. Einfluß der Temperatur bei der Vorbehandlung „eiweißfreier“ Mazerate bei verschiedenen $(\overset{+}{H})$-Konzentrationen auf das Spaltvermögen für Pepton.

Fermentlösung: „Eiweißfreies“ Filtrat bei verschiedenen p_H 20 Std. vorbehandelt.
Substrat: Pepton Witte 5%.

Temperatur der Vorbehandlung	Vers. Temp. 37°	1	2
	Zusammensetzung der Mischung	15 ccm Ferment + pH = 6,44	10 ccm Substrat bei p_H = 7,70
	Zeit in h	10 ccm titriert verbrauchen an $^n/_{10}$-NaOH	
5°	0	7,50	7,30
	3	10,00	9,90
	Differenz 3—0	2,50	2,60
25°	0	7,75	7,45
	3	10,00	9,50
	Differenz 3—0	2,25	2,05
37°	0	7,90	7,55
	3	9,20	8,85
	Differenz 3—0	1,30	1,35

9. Effekt der Vorbehandlung des Säurefiltrates bei verschiedenen Temperaturen.

Fermentlösung: Säurefiltrat (spaltet weder Leucyl-glycin, noch Glycyl-glycin).
Substrat: Pepton Witte 5%.
Reaktion: neutral.

Temperatur und Zeit der Vorbehandlung	Versuchstemperatur 37°	Versuch
	Zusammensetzung der Mischung	20 ccm Ferment + 5 ccm Substrat
	Zeit in h	10 ccm titriert verbrauchen an $^n/_{10}$-NaOH
Sofort	0	6,30
	3	8,20
	Differenz 3 – 0	1,90
Nach 48 Std. bei 5°	0	6,45
	3	8,25
	Differenz 3—0	1,80
Nach 24 Std. bei 25°	0	6,60
	3	8,05
	Differenz 3—0	1,45
Nach 48 Std. bei 25°	0	6,70
	3	8,05
	Differenz 3—0	1,35
Nach 24 Std. bei 37°	0	6,65
	3	7,55
	Differenz 3—0	0,90
Nach 48 Std. bei 37°	0	6,75
	3	7,50
	Differenz 3—0	0,75

10. Einfluß der Vorbehandlung bei verschiedenen Zeiten, Temperaturen und $(\overset{+}{H})$-Konzentrationen auf das Spaltvermögen eines Pankreatinpräparates für Pepton und Dipeptid.

Fermentlösung: Pankreatinsuspension 1% (Parke, Davis & Co.).
Substrate: a) Pepton Witte 5%.
b) Glycyl-glycin.
c) H_2O.

Zeit und Temperatur der Vorbehandlung	Vers. Temp. 37°	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	Zusammensetzung der Mischung	Je 15 ccm Ferment vorbehandelt bei p_H = 4,4 | 7,8 | 8,6 + 10 ccm Substrat a			4,4 | 7,8 | 8,6 + 10 ccm Substrat b			4,4 | 7,8 | 8,6 + 10 ccm Substrat c		
	Zeit in h	Je 10 ccm titriert verbrauchen an $^n/_{10}$-NaOH								
Sofort	0	3,50	3,40	3,15	6,30	6,15	5,95	0,80	0,70	0,45
	2	6,75	6,80	6,60	7,35	7,80	7,55	0,80	0,70	0,55
	Differenz 2—0	3,25	3,40	3,45	1,05	1,65	1,60	0,00	0,00	0,10
	Korrigiert	3,25	3,40	3,35	1,05	1,65	1,50			

Versuch V, 10 (Fortsetzung).

Temperatur	Zeit in h	Je 10 ccm titriert verbrauchen an $^n/_{10}$-NaOH								
40 Stunden bei 5°	0	3,10	3,00	2,90	6,10	6,10	5,90	0,70	0,75	0,60
	2	5,75	6,25	6,20	6,20	7,70	7,40	0,80	0,80	0,60
	Differenz 2—0	2,65	3,25	3,30	0,10	1,60	1,50	0,10	0,05	0,00
	Korrigiert	2,55	3,20	3,30	0,00	1,55	1,50			
20 Stunden bei 37°	0	3,40	3,45	3,30	6,30	6,25	6,20	0,90	0,90	0,70
	2	5,70	5,15	4,60	6,35	7,25	7,05	0,90	0,90	0,70
	Differenz 2—0	2,30	1,70	1,30	0,05	1,00	0,85	0,00	0,00	0,00
	Korrigiert	2,30	1,70	1,30	0,05	1,00	0,85			

VI. Einfluß der Abbauprodukte auf die Pepton- und Dipeptid-Spaltung.

1. Aktivierende Wirkung der Peptonverdauungsprodukte auf die Peptonspaltung, hemmende Wirkung der Peptonverdauungsprodukte auf die Glycyl-glycinspaltung, sowie der Glycyl-glycin-Verdauungsprodukte auf beide Spaltungen.

Fermentlösung: a) Mazerat 1 Tag alt.
b) Verdauungsgemisch aus A.
Substrate: a) Pepton Witte 5%.
b) Glycyl-glycin 2%.
c) H_2O.

A 37°	1	2	3
Zusammensetzung der Mischung	Je 30 ccm Ferment a + 60 ccm Substrat a	b	c
Zeit in h	Je 10 ccm titriert verbrauchen an $^n/_{10}$-NaOH		
0	4,10	8,10	0,60
20	14,15	13,25	1,45
21	14,25	13,55	1,55
40	16,15	15,80	1,60
42	16,15	15,80	1,60
Differenz 42—0	12,05	7,70	1,00
Korrigiert	11,05	6,70	

B 37°	1	2	3
Zusammensetzung der Mischung	Je 15 ccm Ferment b mit dem Endwert 16,15	15,80 + 10 ccm Substrat b	1,60
Zeit in h	10 ccm titriert verbrauchen an $^n/_{10}$-NaOH		
0	10,00	9,65	3,85
3	13,10	10,30	5,05
Differenz 3—0	3,10	0,65	1,20
Korrigiert	+ 1,90	— 0,55	

C 37°	1	2	3
Zusammensetzung der Mischung	Je 15 ccm Ferment b mit dem Endwert 16,15	15,80	1,60
	+ 10 ccm Substrat b		
Zeit in h	10 ccm titriert verbrauchen an $^n/_{10}$-NaOH		
0	13,05	12,80	7,15
3	13,05	13,00	7,50
Differenz 3—0	0,00	0,20	0,35
Korrigiert	— 0,35	— 0,15	

2. Aktivierende Wirkung der Peptonverdauungsprodukte auf die Peptonspaltung selbst, hemmende Wirkung auf die der Dipeptide.

Fermentlösung: a) Mazerat; b) Verdauungsgemisch aus (a).
Substrate: a) Pepton Witte 5%; b) Glycyl-glycin 2%; c) dl-Leucyl-glycin 2%.
Zusatz: Glykokoll 2%.

A 37°	1	2
Zusammensetzung der Mischung	Je 30 ccm Ferment a + 30 ccm H_2O	+ 90 ccm H_2O
	+ 60 ccm Substrat a	
Zeit in h	10 ccm titriert verbrauchen an $^n/_{10}$-NaOH	
0	5,00	2,00
22	11,80	2,15
44	12,75	2,15
47	12,75	2,15
Differenz 47—0	7,75	0,15
Korrigiert	7,60	

B C D 37°	1	2	3	4	5	6
Zusammensetzung der Mischung	Verdauungsgemisch aus a mit dem Endwert 12,75	2,15	12,75	2,15	12,75	2,15
	+ 10 ccm Substrat a		+ 10 ccm Substrat b		+ 10 ccm Substrat c	
Zeit in h	Je 10 ccm titriert verbrauchen an $^n/_{10}$-NaOH nach Sörensen					
0	10,00	3,70	11,65	5,45	11,45	5,10
3	11,75	4,35	11,80	5,45	11,45	5,35
Differenz 3—0	1,75	0,65	0,15	0,00	0,00	0,25
Korrigiert	+ 1,10		+ 0,15		— 0,25	

3. Wie 1 und 2 unter veränderten Konzentrationsverhältnissen.

Fermentlösung: a) Mazerat.
b) Verdauungsgemisch aus A.
Substrate: a) Pepton Witte 5%.
b) Glycyl-glycin 2%.
c) H_2O.

A 37°	1	2	3	4
Zusammensetzung der Mischung	Je 50 ccm Ferment + je 25 ccm Substrat			
	a + c	b + c	a + b	c + c
Zeit in h	Je 10 ccm titriert verbrauchen an $^n/_{10}$-NaOH			
0	4,35	5,30	6,90	2,80
47	11,15	9,30	14,25	4,30
49	11,15	9,30	14,25	4,30
Differenz 49—0	6,80	4,00	7,35	1,50
Korrigiert	5,30	2,50	5,85	

B 37°	1	2	3	4
Zusammensetzung der Mischung	Je 15 ccm Verdauungsgemisch aus A mit Endwert			
	11,15	9,30	14,25	4,30
	versetzt mit 10 ccm Substrat a			
Zeit in h	Je 10 ccm titriert verbrauchen an $^n/_{10}$-NaOH			
0	9,00	7,80	11,00	4,90
3	10,60	8,85	12,45	5,70
Differenz 3—0	1,60	1,05	1,45	0,80
Korrigiert	+ 0,80	+ 0,25	+ 0,65	

C 37°	1	2	3	4
Zusammensetzung der Mischung	Je 15 ccm Verdauungsgemisch aus A mit Endwert			
	11,15	9,30	14,25	4,30
	versetzt mit 10 ccm Substrat b			
Zeit in h	Je 10 ccm titriert verbrauchen an $^n/_{10}$-NaOH			
0	11,60	10,55	13,60	7,50
3	11,60	10,75	13,60	7,75
Differenz 3—0	0,00	0,20	0,00	0,25
Korrigiert	— 0,25	— 0,05	— 0,25	

4. Versuch mit „Säurefiltrat".

A. Fermentlösung: „Säurefiltrat".
Substrate: a) Pepton Witte 5%.
b) H_2O.
B. Fermentlösung: Verdauungsgemisch aus A.
Substrat: Pepton Witte 5%.

A 37°	1	2
Zusammensetzung der Mischung	Je 50 ccm Ferment a + 50 ccm Substrat a	b
Zeit in h	10 ccm titriert verbrauchen an $^n/_{10}$-NaOH	
0	5,70	2,70
47	11,70	2,95
49	11,70	2,95
Differenz 49—0	6,00	0,25
Korrigiert	5,75	

B 37°	Versuch	Nullversuch
Zusammensetzung der Mischung	15 ccm Ferment mit Endwert 11,70	2,95
	+ 10 ccm Substrat	
Zeit in h	10 ccm titriert verbrauchen an $^n/_{10}$-NaOH	
0	9,95	4,10
3	11,40	4,60
Differenz	1,45	0,50
Korrigiert	+ 0,95	

5. Wie die vorigen, mit lange gelagertem Mazerat.

A. Fermentlösung: Mazerat 3 Monate alt.
Substrat: Pepton Witte 5%.
B. Fermentlösung: Verdauungsgemisch aus A.
Substrate: a) Pepton Witte 5%.
b) Glycyl-glycin 2%.

A 37°	1	2
Zusammensetzung der Mischung	30 ccm Ferment a + 60 ccm Substrat a	H_2O
Zeit in h	10 ccm titriert verbrauchen an $^n/_{10}$-NaOH	
0	6,55	2,70
40	15,45	2,80
41	15,45	2,80
Differenz 41—0	8,90	0,10
Korrigiert	8,80	

B 37°	1	2	3	4
Zusammensetzung der Mischung	15 ccm Verdauungsgemisch aus A mit Endwert			
	15,45	2,80	15,45	2,80
	+ je 10 ccm Substrat a		+ je 10 ccm Substrat b	
Zeit in h	Je 10 ccm titriert verbrauchen an $^n/_{10}$-NaOH			
0	11,60	4,00	13,75	6,30
3	12,80	4,65	13,90	6,40
Differenz 3—0	1,20	0,65	0,15	0,10
Korrigiert	+ 0,55		+ 0,05	

6. Aktivierung des Peptonspaltvermögens von Mazerat durch die Verdauungsprodukte des Peptons. Nachweis, daß das Verdauungsgemisch durch frisches Ferment noch weiter spaltbar ist.

Fermentlösung: a) Mazerat.
b) Verdauungsgemisch aus A.
Substrate: a) Pepton Witte 5%.
b) Verdauungsgemisch aus A.

A 37°	1	2
Zusammensetzung der Mischung	60 ccm Ferment a +	
	120 ccm Substrat a	120 ccm H_2O
Zeit in h	10 ccm titriert verbrauchen an $^n/_{10}$-NaOH	
0	6,65	2,60
43	17,30	2,90
45	17,30	2,90
Differenz 45—0	10,75	0,30
Korrigiert	10,45	

B 37°	1	2
Zusammensetzung der Mischung	15 ccm Verdauungsgemisch aus A mit Endwert	
	17,30	2,90
	+ 10 ccm Pepton	
Zeit in h	10 ccm titriert verbrauchen an $^n/_{10}$-NaOH	
0	12,70	3,85
3	14,80	4,70
Differenz 3—0	2,10	0,85
Korrigiert	+ 1,25	

C 37°	1	2
Zusammensetzung der Mischung	25 ccm Ferment a + 25 ccm Substrat b mit Endwert	
	17,30	2,90
Zeit in h	10 ccm titriert verbrauchen an $^n/_{10}$-NaOH	
0	13,20	9,70
19	14,40	10,10
24	15,40	10,30
Differenz 24—0	2,20	0,60
Korrigiert	1,60	

VII. Dialysierversuche.

1. Einfluß der kurzen Dialysen des Mazerates auf die Spaltung von Pepton bzw. Glycyl-glycin.

A. Fermentlösung: a) Mazerat 1 Tag alt.
b) Ferment (a) wurde 24 Stunden durch ein 3%iges Ultrafilter dialysiert.
Substrate: a) Pepton Witte 5%.
b) Glycyl-glycin 2%.

B. Fermentlösung: a) Mazerat 9 Tage alt.
b) Ferment (a) wurde 48 Stunden durch ein 3%iges Ultrafilter dialysiert.
Substrate: a) Pepton Witte 5%.
b) Glycyl-glycin 5%.

A 37°	1	2	3	4
Zusammensetzung der Mischung	Je 15 ccm Ferment a + je 10 ccm Substrat a	Je 15 ccm Ferment b + je 10 ccm Substrat a	Je 15 ccm Ferment a + je 10 ccm Substrat b	Je 15 ccm Ferment b + je 10 ccm Substrat b
Zeit in h	Je 10 ccm titriert verbrauchen an $^n/_{10}$-NaOH			
0	6,35	3,25	18,40	15,10
2	11,70	7,10	19,20	16,50
Differenz 2—0	5,35	3,85	0,80	1,40

B 37°	1	2	3	4
Zusammensetzung der Mischung	Je 15 ccm Ferment a + je 10 ccm Substrat a	Je 15 ccm Ferment b + je 10 ccm Substrat a	Je 15 ccm Ferment a + je 10 ccm Substrat b	Je 15 ccm Ferment b + je 10 ccm Substrat b
Zeit in h	Je 10 ccm titriert verbrauchen an $^n/_{10}$-NaOH			
0	7,50	2,60	11,60	6,85
2	11,50	5,60	12,10	7,80
Differenz 2—0	4,00	3,00	0,50	0,95

2. Einfluß der erschöpfenden Dialyse eines Mazerates auf die Spaltung von Pepton und Dipeptid.

Fermentlösung: a) Mazerat 3 Tage alt; b) Ferment (a) wurde 68 Stunden durch ein 1,5%iges Ultrafilter dialysiert.
Substrate: a) Pepton Witte 5%; b) Pepton Riedel 2½%; c) Glycyl-glycin 2%.

37°	1	2	3	4	5	6
Zusammensetzung der Mischung	Je 10 ccm Ferment a + je 10 ccm H_2O			Je 10 ccm Ferment b + 10 ccm Substrat		
	a	b	c	a	b	c
Zeit in h	Je 10 ccm titriert verbrauchen an $^n/_{10}$-NaOH					
0	4,35	3,45	5,75	2,35	1,50	3,90
2	6,80	4,75	5,90	4,45	2,60	4,10
Differenz 2—0	2,45	1,30	0,15	2,10	1,10	0,20

3. Dialyse eines lange gelagerten Mazerates.

Fermentlösung: a) Mazerat 20 Tage alt; 2 Tage lang dialysiert durch ein 3%iges Ultrafilter; b) Ferment (a) undialysiert.
Substrate: a) Pepton Witte 5%; b) dl-Leucyl-glycyl-glycin 2%; c) Glycyl-l-leucin 2%; d) Glycyl-glycin 2%; e) H_2O.

37°	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Zusammensetzung der Mischung	Je 15 ccm Ferment: a / b + 10 ccm Substrat a		a / b + 10 ccm Substrat b		a / b + 10 ccm Substrat c		a / b + 10 ccm Substrat d		a / b + 10 ccm Substrat e	
Zeit in h	Je 10 ccm titriert verbrauchen an $^n/_{10}$-NaOH nach Sörensen									
0	3,45	7,80	2,80	7,10	4,75	9,15	6,80	11,20	1,30	5,65
2	6,75	11,10	4,00	8,20	5,60	9,60	7,55	11,35	1,40	5,65
Differ. 2 – 0	3,30	3,30	1,20	1,10	0,85	0,45	0,75	0,15	0,10	0,00
Korrigiert	3,20	3,30	1,10	1,10	0,75	0,45	0,65	0,15		

4. Einfluß der Dialyse auf das Spaltvermögen eines mit Kaolin behandelten sehr eiweißarmen Mazerates auf Pepton und Dipeptid.

Fermentlösung: a) Filtrat dargestellt durch Kaolinadsorption des Mazerates; enthält Spuren von Eiweiß; b) Dialysiertes Filtrat (40 Stunden durch ein 3%iges Ultrafilter).
Substrate: a) Pepton Witte 5%; b) Glycyl-glycin 5%.

37°	1	2	3	4
Zusammensetzung der Mischung	15 ccm Ferment a + 10 ccm Substrat: a	b	15 ccm Ferment b + 10 ccm Substrat: a	b
Zeit in h	Je 10 ccm titriert verbrauchen an $^n/_{10}$-NaOH			
0	8,20	12,35	3,25	7,50
3	11,00	12,65	5,60	8,00
Differenz 3—0	2,80	0,30	2,35	0,50

5. Dialyse eines Pankreatinpräparates.

Fermentlösung: a) Pankreatin 1% Parke, Davis & Co.; b) Ferment (a) 24 Stunden dialysiert durch ein 3%iges Ultrafilter.
Substrate: a) Pepton Witte 5%; b) Glycyl-glycin 2%; c) H_2O.

37°	1	2	3	4	5	6
Zusammensetzung der Mischung	Je 15 ccm Ferment: a / b + 10 ccm Substrat a		a / b + 10 ccm Substrat b		a / b + 10 ccm Substrat c	
Zeit in h	Je 10 ccm titriert verbrauchen an $^n/_{10}$-NaOH					
0	3,20	2,50	6,60	5,95	0,90	0,25
2	6,25	5,60	7,65	7,20	1,05	0,40
Differenz 2—0	3,05	3,10	1,05	1,25	0,15	0,15
Korrigiert	2,90	2,95	0,90	1,10		

6. Kinetik der Dipeptidspaltung durch Mazerat vor und nach der erschöpfenden Dialyse.

Fermentlösung: a) Mazerat.
b) Dialysiertes Mazerat (68 Stunden durch ein 1,5%iges Ultrafilter.
Substrat: Glycyl-glycin 2%.

37°	1	2
Zusammensetzung der Mischung	60 ccm Ferment a + je 50 ccm Substrat	60 ccm Ferment b
Zeit in h \	Je 20 ccm titriert verbrauchen an $^{n}/_{10}$-NaOH	
0	17,20	10,85
1	17,25	11,10
Differenz 1—0	0,05	0,25
2	17,30	11,45
Differenz 2—0	0,10	0,60
3	17,50	11,85
Differenz 3—0	0,30	1,00
4	17,85	12,35
Differenz 4—0	0,65	1,50

Kurve 6.

7. Dialyse eines Verdauunsgemisches.

A. Fermentlösung: Mazerat 1 Tag alt.
Substrate: a) Pepton Witte 5%.
b) H_2O.
B. Fermentlösung: a) Verdauungsgemisch aus A mit Endwert 8,35.
b) Wie (a), jedoch 21 Stunden durch 1,5%iges Ultrafilter dialysiert.
Substrate: a) Pepton Witte 5%.
b) Glycyl-glycin 2%.

A 37°	1	2
Zusammensetzung der Mischung	Je 150 ccm Ferment + 50 ccm Substrat	
	a	b
Zeit in h	Je 10 ccm titriert verbrauchen an $^n/_{10}$-NaOH	
0	2,40	0,90
40	8,35	1,75
42	8,35	1,75
Differenz 42—0	5,95	0,85
Korrigiert	5,10	

B 37°	1	2	3	4
Zusammensetzung der Mischung	15 ccm Ferment a + 10 ccm Substrat		15 ccm Ferment b + 10 ccm Substrat	
	a	b	a	b
Zeit in h	Je 10 ccm titriert verbrauchen an $^n/_{10}$-NaOH			
0	7,40	10,20	2,35	5,10
3	9,30	10,20	3,00	5,10
Differenz 3—0	1,90	0,00	0,65	0,00

VIII. Vorbehandlungsversuche mit Glykokoll.

1. Vorbehandlung von frischem Mazerat bei verschiedenen Temperaturen in und ohne Anwesenheit von Glykokoll.

Fermentlösung: Mazerat 1 Tag alt.
Versuch: Je 50 ccm 21 Std. lang bei verschiedenen Temperaturen unter Zusatz verschiedener Mengen von Glykokoll vorbehandelt.
Nullversuch: Vorbehandlung ohne Glykokoll.
Substrat: Pepton Witte 5%.

Vers. Temp. 37°		1	2	3	4
Temperatur der Vorbehandlung	Zusammensetzung der Mischung	Je 15 ccm Ferment + 10 ccm Substrat vorbehandelt mit folgenden Mengen Glykokoll			
		0,2 g	0,5 g	1 g	0 g
	Zeit in h	Je 10 ccm titriert verbrauchen an $^n/_{10}$-NaOH			
5°	0	12,00	16,60	24,00	9,10
	3	15,65	20,00	27,15	12,65
	Differenz 3—0	3,65	3,40	3,15	3,55
	Korrigiert	+ 0,10	— 0,15	— 0,40	

Versuch VIII, 1 (Fortsetzung).

Temperatur	Zeit in h	Je 10 ccm titriert verbrauchen an $^n/_{10}$-NaOH			
25°	0	12,30	16,80	24,35	9,30
	3	15,65	20,00	27,55	12,90
	Differenz 3—0	3,35	3,20	3,20	3,60
	Korrigiert	— 0,25	— 0,40	— 0,40	
37°	0	12,70	16,90	24,40	9,80
	3	15,30	19,60	27,20	12,35
	Differenz 3—0	2,60	2,70	2,80	2,55
	Korrigiert	+ 0,05	+ 0,15	+ 0,25	

2. Hemmende Wirkung der Vorbehandlung mit Glykokoll bei 5° auf die Pepton- und Dipeptidspaltung durch frisches Mazerat.

Fermentlösung: Mazerat 1 Tag alt.
Versuch: 50 ccm Ferment mit 25 ccm Glykokoll 2%.
Nullversuch: 50 ccm Ferment mit 50 ccm H_2O.
Vorbehandlung: 20 Stunden bei 5°.
Substrate: a) Pepton Witte 5%.
b) Pepton Riedel 2,5%.
c) Glycyl-glycin 2%.

37°	Vers. 1	Nullvers.1	Vers. 2	Nullvers.2	Vers. 3	Nullvers.3
Zusammensetzung der Mischung	Je 15 ccm Ferment + 10 ccm Substrat					
	a		b		c	
Zeit in h	Je 10 ccm titriert verbrauchen an $^n/_{10}$-NaOH					
0	8,70	3,45	7,60	2,40	10,70	5,50
3	12,00	7,15	9,45	4,45	11,25	6,00
Differenz 3—0	3,30	3,70	1,85	2,05	0,55	0,50
Korrigiert	— 0,40		— 0,20		+ 0,05	

3. Wie 2, jedoch gelagertes Mazerat.

Fermentlösung: Mazerat 6 Tage alt.
Versuch: 50 ccm Ferment mit 50 ccm Glykokoll 2%.
Nullversuch: 50 ccm Ferment mit 50 ccm H_2O.
Substrate: a) Pepton Witte 5%; b) Glycyl-glycin 2%; c) H_2O.

Vorbehandlung	Vers. Temp. 37°	1	2	3	4
	Zusammensetzung der Mischung	Je 15 ccm Ferment + 10 ccm Substrat			
		a	c	b	c
	Zeit in h	Je 10 ccm titriert verbrauchen an $^n/_{10}$-NaOH			
46 Stunden bei 5°	0	11,85	4,05	14,25	6,25
	3	14,85	7,30	14,55	6,70
	Differenz 3—0	3,00	3,25	0,30	0,45
	Korrigiert	— 0,25		— 0,15	
wie oben und weitere 24 Stunden bei 37°	0	12,10	4,25	14,50	6,50
	3	13,60	5,40	14,65	7,00
	Differenz 3—0	1,50	1,15	0,15	0,50
	Korrigiert	+ 0,35		— 0,35	

4. Fördernde Wirkung der Vorbehandlung mit Glykokoll bei 37° auf die Pepton-, hemmende auf die Dipeptidspaltung durch frisches Mazerat.

A. Fermentlösung: Mazerat 1 Tag alt.
Versuch: 25 ccm Ferment mit 25 ccm 2%igen Glykokoll.
Nullversuch: 25 ccm Ferment mit 25 ccm H_2O; Vorbehandlung 20 Stunden bei 37°.
Substrate: a) Pepton Witte 5%; b) Pepton Riedel $2^1/_2$%. c) Glycyl-glycin 2%.

B. Fermentlösung: Mazerat 6 Tage alt.
Versuch: 50 ccm Ferment mit 50 ccm Glykokoll 2%.
Nullversuch: 50 ccm Ferment mit 50 ccm H_2O; Vorbehandlung 46 Stunden bei 37°.
Substrate: a) Pepton Witte 5%; b) Glycyl-glycin 2%.

C. Fermentlösung: Mazerat 1 Tag alt.
Versuch: 50 ccm Ferment mit 50 ccm Glykokoll 2%.
Nullversuch: 50 ccm Ferment mit 50 ccm H_2O.
Substrate: a) Pepton Witte 5%; b) Glycyl-glycin 2%.

A 37°	Vers. 1	Nullvers.1	Vers. 2	Nullvers.2	Vers. 3	Nullvers.3
Zusammensetzung der Mischung	Je 15 ccm Ferment + 10 ccm Substrat a		Substrat b		Substrat c	
Zeit in h	Je 10 ccm titriert verbrauchen an $^n/_{10}$-NaOH					
0	11,30	3,50	10,40	2,55	13,40	5,55
3	13,35	5,15	11,40	3,30	13,70	5,85
Differenz 3—0	2,05	1,65	1,00	0,75	0,30	0,30
Korrigiert	+ 0,40		+ 0,25		0,00	

B 37°	Vers. 1	Nullvers. 1	Vers. 2	Nullvers. 2
Zusammensetzung der Mischung	Je 15 ccm Ferment + 10 ccm Substrat a		Substrat b	
Zeit in h	Je 10 ccm titriert verbrauchen an $^n/_{10}$-NaOH			
0	12,10	4,25	14,50	6,50
3	13,00	5,00	14,60	6,80
Differenz 3—0	0,90	0,75	0,10	0,30
Korrigiert	+ 0,15		— 0,20	

C Vers. Temp. 37°		Vers. 1	Nullvers.1	Vers. 2	Nullvers.2	Vers. 3	Nullvers.3
Vorbehandlung	Zusammensetzung der Mischung	Je 15 ccm Ferment + je 10 ccm Substrat a		Substrat b		Substrat c	
	Zeit in h	Je 10 ccm titriert verbrauchen an $^n/_{10}$-NaOH					
Ohne Vorbehandlung	0	11,00	3,20	12,55	4,80	8,90	1,00
	2	14,80	7,30	13,90	6,20	9,50	1,60
	Differenz 2—0	3,80	4,10	1,35	1,40	0,60	0,60
	Korrigiert	— 0,30		— 0,05		0,00	
22 Stunden bei 37°	0	12,20	4,50	14,00	6,15	8,40	1,85
	2	14,90	6,10	14,90	7,25	8,40	1,85
	Differenz 2—0	2,70	1,60	0,90	1,10	0,00	
	Korrigiert	+ 1,10		— 0,20		0,00	

5. Glykokoll bleibt bei der Vorbehandlung von mit Kaolin behandelten Mazeraten ohne Einfluß auf die Spaltung von Pepton und Dipeptid.

Fermentlösung: „Eiweißfreies“ Filtrat durch Kaolinadsorption dargestellt; $p_H = 7{,}2$; 3 Monate alt.
Versuch: 50 ccm Ferment mit 50 ccm Glykokoll 2%.
Nullversuch: 50 ccm Ferment und 50 ccm H_2O. Vorbehandlung 24 Stunden bei 37°.
Substrate: a) Pepton Witte 5%. b) Glycyl-glycin 2%.

37°	1	2	3	4
Zusammensetzung der Mischung	15 ccm Ferment			
	a + 10 ccm Substrat a	b + 10 ccm Substrat a	a + 10 ccm Substrat b	b + 10 ccm Substrat b
Zeit in h	Je 10 ccm titriert verbrauchen an $^n/_{10}$-NaOH			
0	21,35	7,30	23,60	9,55
3	22,35	8,30	23,70	9,70
Differenz 3—0	1,00	1,00	0,10	0,15
Korrigiert	0,00		— 0,05	

6. Hemmender Einfluß der Vorbehandlung von Säurefiltrat mit Glykokoll bei verschiedenen Temperaturen auf die Peptonspaltung.

Fermentlösung: Versuch: „Säurefiltrat“ mit Glykokoll 2%.
Nullversuch: Ohne Glykokoll.
Substrat: Pepton Witte 5%.

Zeit und Temperatur der Vorbehandlung	Vers. Temp. 37°	1	2
	Zusammensetzung der Mischung	15 ccm Ferment mit Glykokoll + 10 ccm Substrat	15 ccm Ferment ohne Glykokoll + 10 ccm Substrat
	Zeit in h	Je 10 ccm titriert verbrauchen an $^n/_{10}$-NaOH	
20 Stunden bei 5°	0	23,60	5,75
	2	25,30	7,90
	Differenz 2—0	1,70	2,15
	Korrigiert	— 0,45	
20 Stunden bei 25°	0	23,60	5,70
	2	25,10	7,40
	Differenz 2—0	1,50	1,70
	Korrigiert	— 0,20	
20 Stunden bei 37°	0	23,70	5,75
	2	24,30	6,80
	Differenz 2—0	0,60	1,05
	Korrigiert	— 0,45	

7. Pankreatinsuspension.

Fermentlösung: Pankreatinpräparat Parke, Davis & Co. in 1%iger Suspension, neutral gegen Lackmus.

Substrate: a) Pepton Witte 5%.
b) Glycyl-glycin 2%.

Zusatz: Glykokoll in verschiedenen Konzentrationen.

37°	1	2	3	4	5	6	7	8
Zusammensetzung der Mischung	Je 10 ccm Ferment + je 5 ccm Glykokoll von							
	2%	1%	0,5%	0,0%	2%	1%	0,5%	0,0%
	+ 10 ccm Substrat a				+ 10 ccm Substrat b			
Zeit in h	Je 10 ccm titriert verbrauchen an $^n/_{10}$-NaOH							
0	8,55	5,80	4,30	2,95	11,85	9,00	7,60	6,15
2	11,95	9,25	7,75	6,35	13,05	10,25	8,85	7,35
Differenz 2—0	3,40	3,45	3,45	3,40	1,20	1,25	1,25	1,20

8. Wie II/4 unter Zusatz von Glykokoll.

Fermentlösung: a) Wasserlöslicher Anteil (1%ige Pankreatinsuspension Parke, Davis & Co., neutral gegen Lackmus).
b) Rückstandsuspension (ausgewaschen u. auf die ursprüngliche Konzentration gebracht).

Substrate: a) Pepton Witte 5%.
b) Glycyl-glycin 2%.
c) H_2O.

Zusatz: Glykokoll 2%.

37°	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Zusammensetzung der Mischung	Je 25 ccm Ferment a					Je 25 ccm Ferment b				
	+ 10 ccm Substrat									
	a		b		c	a		b		c
	+ 10 ccm H_2O	+ 10 ccm Zusatz	+ 10 ccm H_2O	+ 10 ccm Zusatz	+ 10 ccm H_2O	+ 10 ccm H_2O	+ 10 ccm Zusatz	+ 10 ccm H_2O	+ 10 ccm Zusatz	+ 10 ccm H_2O
Zeit in h	Je 10 ccm titriert verbrauchen an $^n/_{10}$-NaOH									
0	1,90	7,75	2,40	8,40	0,65	1,25	7,15	1,95	7,80	0,10
22	4,90	10,80	3,40	9,20	0,80	3,35	9,40	3,95	9,70	0,10
Differenz 22—0	3,00	3,05	1,00	0,80	0,15	2,10	2,25	2,00	1,90	0,00
43	5,30	11,10	4,00	9,70	0,90	3,80	9,85	3,95	9,80	0,10
45	5,30	11,10	4,00	9,70	0,90	3,80	9,85	3,95	9,80	0,10
Differenz 45—0	3,40	3,35	1,60	1,30	0,25	2,55	2,70	2,00	2,00	0,00
Korrigiert	3,15	3,10	1,35	1,05		2,55	2,70	2,00	2,00	

Literatur.

B. = Bericht d. Deutschen Chemischen Gesellschaft; H. S. = Hoppe-Seylers Zeitschrift für physiologische Chemie; F. = Fermentforschung.

1. Waldschmidt-Leitz u. A. Hartenek, H.S. **147**, 286 (1925). — 2. Waldschmidt-Leitz u. A. Hartenek, H.S. **140**, 203 (1925). — 3. Waldschmidt-Leitz W. Grassmann u. Anton Schäffer, B. **60**, 359 (1926). — 4. Waldschmidt-Leitz, W. Grassmann u. H. Schlatter, B. **60**, 1906 (1927). — 5. Waldschmidt-Leitz u. A. Schäffer, B. **60**, 1147 (1927). — 6. Waldschmidt-Leitz u. A. Schäffer, B. **61**, 299 (1928). — 7. Waldschmidt-Leitz u. W. Klein, B. **61**, 640 (1928). — 8. Waldschmidt-Leitz u. G. Raschallus, B. **61**, 645 (1928). — 9. Waldschmidt-Leitz u. W. Klein, B. **61**, 2092 (1928). — 10. Waldschmidt-Leitz, A. Balls u. Waldschmidt-Graser, B. **62**, 956 (1929). — 11. W. Grassmann, H.S. **167**, 202 (1927). — 12. Waldschmidt-Leitz u. A. Purr, B. **62**, 2217 (1929). — 13. Euler u. Josephson, B. **59**, 226 (1926). — 14. Euler u. Josephson, H.S. **157**, 122 (1926). — 15. E. Abderhalden, Naturwissenschaften, **16**, 396 (1928). — 16. E. Abderhalden u. O. Herrmann, F. **10**, 586 (1928). — 17. E. Abderhalden u. H. Brockmann, F. **9**, 446 (1928). — 18. E. Abderhalden u. E. Rossner, F. **9**, 494 (1928). — 19. E. Abderhalden u. H. Sickel, F. **9**, 462 (1928). — 20. E. Abderhalden u. W. Köppel, F. **9**, 516 (1928). — 21. E. Abderhalden u. F. Reich, F. **10**, 173 (1928). — 22. E. Abderhalden u. F. Reich, F. **10**, 320 (1928). — 23. E. Abderhalden u. H. Sickel, F. **10**, 302 (1928). — 24. E. Abderhalden u. E. Schwab, F. **10**, 179 (1928). — 25. E. Abderhalden u. F. Schweitzer, F. **10**, 341 (1928). — 26. E. Abderhalden u. A. Schmitz, F. **10**, 428 (1929). — 27. E. Abderhalden, R. Fleischmann u. W. Irion, F. **10**, 446 (1929). — 28. E. Abderhalden u. Hugo Meyer, F. **10**, 464 (1929). — 29. E. Abderhalden u. E. Schwab, F. **9**, 501 (1928). — 30. E. Abderhalden u. O. Hermann, F. **10** 145 (1928). — 31. E. Abderhalden u. R. Fleischmann, F. **10**, 195 (1928). — 32. E. Abderhalden, P. Sah u. E. Schwab, F. **10**, 264 (1928). — 33. E. Schwab u. E. Abderhalden, F. **10**, 305 (1928). — 34. E. Abderhalden u. A. Schmitz, F. **10**, 592 (1929). — 35. E. Abderhalden u. F. Schweitzer, F. **11**, 47 (1929). — 36. E. Abderhalden u. H. Brokmann, F. **10**, 160 (1928). — 37. E. Abderhalden u. E. Schwab, F. **10**, 440 (1929). — 38. E. Abderhalden, E. Rindtorff u. A. Schmitz, F. **10**, 233 (1929). — 39. E. Abderhalden u. O. Hermann, F. **10**, 610 (1929). — 40. E. Abderhalden u. W. Zeisset, F. **10**, 481 (1929). — 41. E. Abderhalden u. E. Schwab, F. **10**, 478 (1929). — 42. E. Abderhalden u. A. Schmitz, F. **10**, 104 (1929). — 43. Grassmann, H.S. **167**, 202 (1927). — 44. A. Fodor, u. R. Schönfeld, H.S. **170**, 231 (1927). — 45. A. Fodor, Das Fermentproblem. Dresden, Leipzig. (1929), Verlag Steinkopff. — 46. R. Kuhn u. Braun, B. **59**, 2371 (1926). — 47. L. Michaelis und Merten, Biochem. Zschr. **49**, (1913); L. Michaelis u. Rothstein, Ebenda **110**, (1920); R. Kuhn, H. **125**, 1, 28 (1922/23): H. v. Euler u. Myrbaeck, H. **124**, 159 (1922/23). — 48. A. Fodor u. R. Schönfeld, H.S. **160**, 169 (1926). — 49. A. Fodor u. Ch. Epstein, H.S. **176**, 1 (1927). — 50. E. Abderhalden u. A. Fodor, F. **1**, 533 (1916). — 51. A. Fodor, F. **4**, 209 (1921); **6**, 208 (1922). — 52. A. Fodor u. R. Cohn, H.S. **176**, 17 (1928). — 53. A. Fodor, F. **10**, 274 (1928). — 54. A. Fodor, F. **6**, 269 (1922). — 55. A. Fodor, A. Bernfeld u. R. Schönfeld, Kolloid Zeitschrift, **37**, 32 u. 159 (1925). — 56. A. Fodor u. L. Frankenthal, F. **11**, 469 (1930). — 57. A. Fodor, F. **6**, 248 (1922). — 58. A. Fodor u. R. Schönfeld, Kolloid Zeitschrift, **39**, 56 (1926); ebenda 240 (1926). — 59. A. Fodor u. Ch. Epstein, Kolloid Zeitschrift, **37**, 168 (1925). — 60. Linderström-Lang, H.S. **182**, 151 (1929).

Lebenslauf.

Ich Rebecka Schönfeld, verehelichte Reiner aus Jerusalem, Palästina, wurde geboren am 9. Dezember 1901 in Riga in Lettland. Meine Eltern sind Israel und Hadassa Schönfeld. Mein Vater ist von Beruf Kaufmann und wohnt in Riga. Meine Vorbildung erhielt ich am Mädchengymnasium Lischina in Riga von 1908—1915, am Gymnasium Preobraschenski in Petrograd von 1915—1918 und schließlich am Mädchengymnasium von L. Tailow in Riga. Am 15. Juni 1919 wurde ich mit Reifezeugnis aus dem Gymnasium Tailow entlassen. Meine Fachstudien machte ich: an der Friedrich-Wilhelms Universität zu Berlin 1921—1923 und an der Friedrichs-Universität Halle-Wittenberg 1923—1924.

Bei folgenden Dozenten habe ich Vorlesungen besucht und an Übungen teilgenommen. In Berlin: Professoren Haberlandt, Virchow, Miehe Magnus, Buddenbrock, Pompecky, Stier, Korf-Petersen, Schroeter, Rona, René du Bois Reymond, Rawitz, Schlenk, Steudel und Markwald. In Halle: Abderhalden, Frischeisen-Köhler, Karsten, Ziehen, Menzer, Fodor. In Jerusalem: Fodor.

Seit 1924 bin ich Assistentin am Institut für Biochemie der Hebräischen Universität Jerusalem und habe während dieser Zeit als Mitarbeiterin des Leiters des Institutes, Herrn Prof. Dr. A. Fodor, folgende fachwissenschaftliche Arbeiten mitveröffentlicht:

A. Fodor u. R. Schönfeld: 1. Studien über die Natur der Adsorptionsvorgänge. Kolloidchemische Beihefte **18**, 77 (1923). — 2. Die Adsorption von Hefephosphorprotein. Kolloid-Zeitschrift **37**, 37 (1925). — 3. Über die Natur des peptidspaltenden Fermentes in Hefemazeraten. Kolloid-Zeitschrift **37**, 32 (1925). — 4. Über die Natur des peptidspaltenden Fermentes in Hefemazeraten. Kolloid-Zeitschrift **37**, 159 (1925). — 5. Über die Natur des peptidspaltenden Fermentes in Erbsenmazeraten. Kolloid-Zeitschrift **39**, 56 (1926). — 6. Weitere Studien über das Wesen der Peptidsysteme. Kolloid-Zeitschrift **39**, 240 (1926). — 7. Elution verschiedener Peptidsysteme. Hoppe-Seyler, **160**, 189 (1926). — 8. Vergleichende Versuche über die Spaltung von Seidenpepton. Hoppe-Seyler **170**, 231 (1927). — 9. Über den Abbau der Gelatine durch Glyzerin unter verschiedenen Bedingungen. Isolierung eines nicht-kolloiden durch Pepsin spaltbaren Zwischenprodukts. Biochemische Zeitschrift **200**, 223 (1928).

Meine Dissertation ist unter Leitung von Herrn Prof. A. Fodor in den Jahren 1928—1930 entstanden.